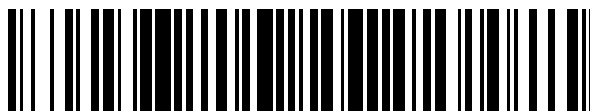


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 591 135**

51 Int. Cl.:

G01N 33/573 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.07.2011** **PCT/US2011/045842**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.02.2012** **WO12016113**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.07.2011** **E 11813229 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.07.2016** **EP 2598885**

54 Título: **Ensayos biomarcadores para detectar o medir la inhibición de la actividad quinasa TOR**

30 Prioridad:

30.07.2010 US 369455 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

25.11.2016

73 Titular/es:

SIGNAL PHARMACEUTICALS, LLC (100.0%)
10300 Campus Point Drive, Suite 100
San Diego, CA 92121, US

72 Inventor/es:

WONG, LILLY;
XU, SHUICHAN y
DING, JIAN-HUA

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 591 135 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Ensayos biomarcadores para detectar o medir la inhibición de la actividad quinasa TOR

1. Campo

La presente proporciona procedimientos para detectar y/o medir la inhibición de la actividad quinasa TOR en un individuo y los usos relacionados con ella.

2. Antecedentes

La relación entre la fosforilación anormal de proteínas y la causa o la consecuencia de enfermedades se conoce desde hace más de 20 años. En consecuencia, las proteínas quinasas se han convertido en un grupo muy importante de medicamentos objetivo. Véase Cohen, *Nature Reviews Drug Discovery*, 1:309-315 (2002). Varios inhibidores de proteína quinasa se han utilizado clínicamente en el tratamiento de una amplia variedad de enfermedades, como el cáncer y las enfermedades inflamatorias crónicas, incluidas la diabetes y el accidente cerebrovascular. Véase Cohen, *Eur. J. Biochem.*, 268:5001-5010 (2001), *Protein Kinase Inhibitors for the Treatment of Disease: The Promise and the Problems*, Handbook of Experimental Pharmacology, Springer Berlin Heidelberg, 167 (2005).

Las proteínas quinasas son una familia grande y diversa de enzimas que catalizan la fosforilación de proteínas y juegan un papel crítico en la señalización celular. Las proteínas quinasas pueden tener efectos reguladores positivos o negativos, dependiendo de su proteína objetivo. Las proteínas quinasas participan en vías de señalización específicas que regulan las funciones celulares, entre otras, el metabolismo, la progresión del ciclo celular, la adhesión celular, la función vascular, la apoptosis y la angiogénesis. El mal funcionamiento de la señalización celular se ha asociado con muchas enfermedades; las más características son el cáncer y la diabetes. La regulación de la transducción de señales por las citoquinas y la asociación de moléculas de señalización con protooncogenes y genes supresores de tumores han sido bien documentadas. Del mismo modo se ha demostrado la relación entre la diabetes y sus enfermedades relacionadas y los niveles desregulados de proteína quinasas. Véase, *por ejemplo*, Sridhar et al. *Pharmaceutical Research*, 17(11):1345-1353 (2000). Las infecciones virales y sus enfermedades relacionadas también se han asociado con la regulación de proteínas quinasas. Park et al. *Cell* 101 (7): 777-787 (2000).

Las proteínas quinasas pueden dividirse en grupos amplios sobre la base de la identidad del aminoácido al que se dirigen (serina/treonina, tirosina, lisina e histidina). Por ejemplo, la tirosina quinasa incluye los receptores tirosina quinasas (RTK), como factores de crecimiento, y tirosina quinasas no receptoras, como la familia SRC quinasa. También hay proteínas quinasas de doble especificidad que se orientan tanto a tirosina como a serina/treonina quinasas, como las quinasas dependientes de ciclina (CDKs) y las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPKs).

Debido a que las proteínas quinasas regulan casi todos los procesos celulares, incluso el metabolismo, la proliferación celular, la diferenciación celular y la supervivencia celular, son objetivos atractivos para la intervención terapéutica en diversos estados de enfermedad. Por ejemplo, el control del ciclo celular y la angiogénesis, en la que las proteínas quinasas juegan un papel fundamental, son procesos celulares asociados con numerosas enfermedades entre las que se pueden mencionar, a modo no taxativo, cáncer, enfermedades inflamatorias, angiogénesis anormal y enfermedades relacionadas, aterosclerosis, degeneración macular, diabetes, obesidad y dolor.

Las proteínas quinasas se han convertido en objetivos atractivos para el tratamiento de cáncer. Fabbro et al., *Pharmacology & Therapeutic* 93:79-98 (2002). Se ha propuesto que la participación de proteínas quinasas en el desarrollo de tumores malignos en humanos puede producirse por:

(1) reordenamientos genómicos (por ejemplo, BCR-ABL en la leucemia mielógena crónica), (2) mutaciones que conducen a la actividad de quinasa constitutivamente activa, como la leucemia mieloide aguda y los tumores gastrointestinales, (3) desregulaciones de la actividad quinasa por la activación de oncogenes o pérdida de las funciones de supresión de tumores, como en los cánceres con RAS oncogénico, (4) desregulaciones de la actividad quinasa por la sobreexpresión, como en el caso de EGFR y (5) expresiones ectópicas de los factores de crecimiento que pueden contribuir al desarrollo y mantenimiento del fenotipo neoplásico. Fabbro et al., *Pharmacology Therapeutic* 93:79-98 (2002).

La elucidación de la complejidad de las vías de la proteína quinasa y la complejidad de la relación e interacción entre las diferentes proteínas quinasas y vías quinasa pone de relieve la importancia de desarrollar agentes farmacéuticos capaces de actuar como moduladores, reguladores o inhibidores de la proteína quinasa que tienen actividad beneficiosa en múltiples quinasas o múltiples vías de quinasa. En consecuencia, sigue habiendo una necesidad de nuevos moduladores de quinasa.

La proteína llamada mTOR (objetivo mamífero de la rapamicina), que también se conoce como FRAP, RAFTI o RAPT1), es una proteína Ser/Thr quinasa amino ácido 2549, que ha demostrado ser una de las proteínas más críticas en la vía mTOR/PI3K/Akt que regula el crecimiento y la proliferación celular. Georgakis and Younes *Expert Rev. Anticancer Ther.* 6(1):131-140 (2006). mTOR existe dentro de los dos complejos, mTORC1 y mTORC2. Mientras

mTORC1 es sensible a los análogos de rapamicina (como temsirolimus o everolimus), mTORC2 no es, en gran medida, sensible a rapamicina. En particular, la rapamicina no es un inhibidor de la quinasa TOR. Varios inhibidores de mTOR han sido o están siendo evaluados en ensayos clínicos para el tratamiento del cáncer. Temsirolimus fue aprobado para su uso en el carcinoma de células renales en 2007 y everolimus fue aprobado en 2009 para pacientes con carcinoma de células renales que avanzó a los inhibidores del receptor del factor de crecimiento endotelial vascular. Además, sirolimus fue aprobado en 1999 para la profilaxis del rechazo del trasplante renal. El interesante pero limitado éxito clínico de estos compuestos inhibidores mTORC1 demuestra la utilidad de los inhibidores de mTOR en el tratamiento del cáncer y el rechazo de trasplantes y el aumento del potencial de compuestos con la actividad inhibitoria tanto de mTORC1 como de mTORC2.

Debido a las potenciales aplicaciones farmacéuticas como inhibidores de la actividad quinasa TOR, existe una necesidad de procedimientos para detectar y/o medir la inhibición de la actividad quinasa TOR en seres vivos.

La cita o identificación de cualquier referencia en la Sección 2 de esta solicitud no debe ser interpretada como una admisión de que la referencia es una técnica anterior a la presente solicitud.

3. Sumario

La presente proporciona procedimientos in vitro para detectar o medir la inhibición de la actividad de la quinasa TOR en un individuo, que comprende el uso de citometría de flujo para medir la cantidad de 4EBP1 fosforilada (también denominado "p4EBP1") en muestras biológicas que se han obtenido de ese individuo antes y después de la administración de un inhibidor de la quinasa TOR, donde el inhibidor de la quinasa TOR es 7-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-1-(trans-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona o una sal, un clatrato, solvato, estereoisómero, tautómero o profármaco farmacéuticamente aceptable de este, donde una disminución en la cantidad de 4EBP1 fosforilada confirma la inhibición de la actividad de la quinasa TOR en el individuo.

Se proporcionan además en el presente documento los procedimientos in vitro para determinar una relación dosis-respuesta para la administración de un inhibidor de la quinasa TOR a un individuo, donde a este individuo se le administran dosis variables del inhibidor de la quinasa TOR y se determina la cantidad de inhibición de la actividad de la quinasa TOR en ese individuo a partir de cada dosis de dicho inhibidor de la quinasa TOR mediante citometría de flujo para medir la cantidad de 4EBP1 fosforilada en muestras biológicas que han sido obtenidas de este individuo antes y después de cada administración del inhibidor de la quinasa TOR.

Se proporcionan además en el presente documento los procedimientos in vitro para determinar si un individuo es sensible a un inhibidor de la quinasa TOR, que comprende administrar a dicho individuo el inhibidor de la quinasa TOR y determinar si la actividad de la quinasa TOR se inhibe en el individuo mediante citometría de flujo para medir la cantidad de 4EBP1 fosforilada en muestras biológicas que han sido obtenidas de este individuo antes y después de cada administración del inhibidor de la quinasa TOR.

Se proporcionan además en el presente documento los procedimientos in vitro para determinar la cantidad efectiva de un inhibidor de la quinasa TOR para el tratamiento de una enfermedad en un individuo, que comprende administrar dosis variables de dicho inhibidor de la quinasa TOR y determinar la cantidad de inhibición de la actividad de la quinasa TOR en ese paciente a partir de cada dosis de dicho inhibidor de la quinasa TOR mediante citometría de flujo para medir la cantidad de 4EBP1 fosforilada en muestras biológicas que han sido obtenidas de este individuo antes y después de cada administración del inhibidor de la quinasa TOR.

Adicionalmente se describen en la presente solicitud procedimientos para el tratamiento de una enfermedad asociada con la quinasa TOR en un paciente que tiene una enfermedad asociada con la quinasa TOR, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad efectiva de un inhibidor de la quinasa TOR, donde la cantidad efectiva del inhibidor de TOR se determina mediante el uso de un procedimiento proporcionado en la presente solicitud.

En ciertas realizaciones, los procedimientos proporcionados en la presente solicitud se llevan a cabo por contacto de una muestra biológica de un paciente con inhibidor de la quinasa TOR *ex vivo*.

Se proporcionan además en el presente documento kits que comprenden uno o más recipientes que tienen un anticuerpo p4EBP1, donde el kit se usa para medir la cantidad de 4EBP1 en muestras biológicas mediante citometría de flujo, donde el inhibidor de la quinasa TOR es 7-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-1-(trans-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona o una sal, un clatrato, solvato, estereoisómero, tautómero o profármaco farmacéuticamente aceptable de este.

Las presentes realizaciones se pueden conocer en mayor profundidad a través de la descripción detallada y los ejemplos ilustrativos que se incluyen a continuación.

4. Breve descripción de los gráficos

FIG 1. Proporciona histogramas que representan poblaciones de células de células no tratadas (sombreado), células tratadas DMSO (línea con guiones), células específicas tratadas de péptidos bloqueantes (línea continua) y células

tratadas del Compuesto 1 (línea de puntos). (A) Representa células PC3 tratadas con 10 μM del Compuesto 1. (B) Proporciona histogramas que representan CD91 + monocitos de sangre entera de voluntarios sanos normales tratada ex vivo con 30 μM del Compuesto 1. (C) Proporciona histogramas que representan CD91 + monocitos de sangre entera de pacientes con cáncer tratada ex vivo con 30 μM del Compuesto 1.

FIG 2. Ilustra la reproducibilidad del ensayo p4EBP1 con respecto a las variaciones diarias de p4EBP1 en monocitos de los mismos donantes sanos (se extrajo sangre de 3 donantes sanos en 3 días consecutivos). (A) Ilustra la intensidad de fluorescencia media de los 3 donantes en diferentes días. (B) Ilustra la inhibición por el Compuesto 1. (C) Proporciona un histograma ilustrativo que representa poblaciones de células de células no tratadas (sombreado), células tratadas DMSO (línea de guiones), células específicas tratadas de péptidos bloqueantes (línea continua) y células tratadas del Compuesto 1 (línea de puntos).

FIG 3. Ilustra la estabilidad de la señal de p4EBP1 en células congeladas fijas. Todas las muestras de sangre entera se trataron con DMSO o el Compuesto 1 a 37°C durante 2 horas y se fijaron y congelaron PBMC sin tampón de estabilización. (A) Proporciona histogramas de CD91 + monocitos de sangre entera recién preparada. (B) Proporciona un gráfico de barras que ilustra la estabilidad de las señales de p4EBP1 en la población CD91 + monocitos de células congeladas durante un periodo de 1 mes. (C) Proporciona una tabla que resume la viabilidad y la intensidad de fluorescencia media (MFI) de las células tratadas.

FIG 4. (A) Ilustra el tratamiento ex vivo de sangre entera de donantes sanos con el Compuesto 1 durante 2 horas a temperatura ambiente. Las muestras se procesaron por triplicado. El Compuesto 1 del tratamiento mostró una inhibición significativa ($p < 0,005$) a los 5 μM y 0,5 μM . (B) Ilustra el tratamiento ex vivo de sangre entera de donantes sanos con el Compuesto 1 en las concentraciones indicadas, por triplicado, durante 2 horas a temperatura ambiente. Las muestras se procesaron por triplicado. El Compuesto 1 del tratamiento mostró una inhibición significativa ($p < 0,005$) a los 5 μM y 0,5 μM .

FIG 5. Ilustra que p4EBP1 se inhibe en la sangre periférica de los pacientes. Cada línea representa un paciente.

FIG 6. Ilustra que p4EBP1 se inhibe en la sangre periférica de los pacientes. Cada línea representa un paciente.

5. Descripción detallada

5.1 Definiciones

El término "tratar" como se usa en la presente solicitud significa el alivio, en su totalidad o en parte, de los síntomas asociados con un trastorno o enfermedad o ralentización o detención del avance o empeoramiento de estos síntomas.

El término "cantidad efectiva" en relación con un inhibidor de la quinasa TOR significa una cantidad capaz de aliviar, en su totalidad o en parte, los síntomas asociados con una enfermedad o un trastorno o ralentizar el avance o detener el avance o empeoramiento de estos síntomas. La cantidad efectiva del inhibidor de la quinasa TOR, por ejemplo, en una composición farmacéutica, puede ser a un nivel que ejercerá el efecto deseado; por ejemplo, de aproximadamente 0,005 mg/kg en peso corporal de un individuo a aproximadamente 100 mg/kg en peso corporal de un paciente en dosis unitaria tanto para administración oral como parenteral. Como será evidente para los entendidos en la técnica, se espera que la cantidad efectiva de un inhibidor de la quinasa TOR descrito en la presente solicitud puede variar en función de la gravedad de lo que se está tratando.

Los términos "paciente" e "individuo" como se usan en el presente incluyen un animal, que a su vez incluye, a modo no taxativo, vaca, mono, caballo, oveja, cerdo, pollo, pavo, codorniz, gato, perro, ratón, rata, conejo o conejillo de indias, en una realización un mamífero, en otra realización un ser humano. En una realización, un "paciente" o "individuo" es un humano que tiene una enfermedad que se incluye en el presente documento, como una enfermedad asociada con una quinasa TOR.

El término "muestra biológica" como se usa en la presente solicitud incluye muestras de sangre y muestras de tejido, como muestras de tumores. En una realización, la muestra biológica es una muestra de sangre periférica. En otra realización, la muestra biológica es plasma. En otra realización, la muestra biológica es plasma rico en plaquetas.

El término "inhibidor de la quinasa TOR", como se usa en la presente solicitud significa un compuesto (por ejemplo, una molécula pequeña) o un agente biológico (por ejemplo, una proteína) que puede inhibir la actividad de la quinasa TOR [donde el inhibidor de la quinasa TOR es 7-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-1-(trans-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona (es decir, *in vitro* o *in vivo*). Como se describe en el presente documento, el inhibidor de la quinasa TOR es un compuesto descrito en dos documentos WO 2008/023161 (véase, por ejemplo, desde la página 5, línea 5 hasta la página 11, línea 15), WO 2009/007751 (véase, por ejemplo, desde la página 9, línea 8 hasta la página 26, línea 8), WO 2009/007749 (véase, por ejemplo, desde la página 9, línea 21 hasta la página 29, línea 23), WO 2009/007750 (véase, por ejemplo, desde la página 9, línea 21 hasta la página 32, línea 22), WO 2009/007748 (véase, por ejemplo, desde la página 9, línea 6 hasta la página 42, línea 28), WO 2008/032028 (véase, por ejemplo, desde la página 11, línea 13 hasta la página 21, línea 13), WO 2008/032086 (véase, por ejemplo, desde la página 10, línea 21 hasta la página 15,

línea 22), WO 2008/032072 (véase, por ejemplo, desde la página 11, línea 11 hasta la página 16, línea 13), WO 2008/032033 (véase, por ejemplo, desde la página 11, línea 3 hasta la página 16, línea 5), WO 2008/032089 (véase, por ejemplo, desde la página 11, línea 11 hasta la página 16, línea 13), WO 2008/032060 (véase, por ejemplo, desde la página 11, línea 3 hasta la página 16, línea 6), WO 2008/032091 (véase, por ejemplo, desde la página 11, línea 11 hasta la página 16, línea 13), WO 2008/032036 (véase, por ejemplo, desde la página 11, línea 13 hasta la página 21, línea 13), WO 2008/032.077 (véase, por ejemplo, desde la página 10, línea 21 hasta la página 15, línea 22), WO 2008/032064 (véase, por ejemplo, desde la página 11, línea 3 hasta la página 16, línea 5). WO 2008/032027 (véase, por ejemplo, desde la página 10, línea 21 hasta la página 15, línea 22), WO 2007/135398 (véase, por ejemplo, desde la página 11, línea 28 hasta la página 16, línea 6), WO 2007/129052 (véase, por ejemplo, desde la página 10, línea 8 hasta la página 13, línea 5), WO 2007/129044 (véase, por ejemplo, desde la página 10, línea 22 hasta la página 13, línea 20), WO 2007/080382 (véase, por ejemplo, desde la página 9, línea 20 hasta la página 32, línea 32), WO 2007/066102 (véase, por ejemplo, desde la página 9, línea 22 hasta la página 14, línea 17), WO 2007/066099 (véase, por ejemplo, desde la página 9, línea 22 hasta la página 14, línea 14), WO 2007/066103 (véase, por ejemplo, desde la página 9, línea 22 hasta la página 14, línea 16), WO 2007/060404 (véase, por ejemplo, desde la página 7, línea 4 hasta la página 7, línea 25), WO 2006/090169 (véase, por ejemplo, la página 4, líneas 1-25), WO 2006/090167 (véase, por ejemplo, desde la página 3, línea 33 hasta la página 6, línea 23), WO 2008/115974 (véase, por ejemplo, desde la página 4, párrafo [0012] hasta la página 127, párrafo [0257]), WO 2009/052145 (véase, por ejemplo, desde la página 5, párrafo [0015] hasta la página 81, párrafo [0082]), WO 2010/006072 (véase, por ejemplo, desde la página 28, línea 1 hasta la página 34, línea 1), WO 2007/044698 (véase, por ejemplo, la página 3, párrafo [0010] en la parte inferior de la página 7), WO 2007/044813 (véase, por ejemplo, la página 3, párrafo [0010] a la mitad de la página 7), WO 2007/044729 (véase, por ejemplo, la página 3, párrafo [0010] en la parte inferior de la página 10), WO 2007/129161 (véase, por ejemplo, desde la página 2, línea 10 hasta la página 9, línea 19), WO 2006/046031 (véase, por ejemplo, desde la página 2, línea 15 hasta la página 4, línea 12), WO 2003/072557 (véase, por ejemplo, desde la página 1, línea 4 hasta la página 2, línea 27), WO 2004/048365 (véase, por ejemplo, desde la página 1, línea 4 hasta la página 4, línea 17), WO 2004/078754 (véase, por ejemplo, desde la página 1, línea 4 hasta la página 2, línea 21), WO 2004/096797 (véase, por ejemplo, desde la página 1, línea 4 hasta la página 2, línea 34), WO 2005/021519 (véase, por ejemplo, desde la página 1, línea 4 hasta la página 4, línea 17) o US 2007/112005 (véase, por ejemplo, desde la página 2, párrafo [0012] hasta la página 22, párrafo [0065]). Se pueden obtener Inhibidores de la quinasa TOR a través de metodología estándar, sintética, conocida, véase por ejemplo, March, J. Advanced Organic Chemistry: Reactions Mechanisms, and Structure, 4^{ta} ed., 1992. Los materiales de partida útiles para preparar compuestos de fórmula (III) y compuestos intermedios de estos, por lo tanto, están disponibles comercialmente o se pueden preparar a partir de materiales comercialmente disponibles mediante el uso de procedimientos y reactivos sintéticos conocidos. Los procedimientos particulares para la preparación de los inhibidores de la quinasa TOR se describen en la Solicitud de Patente de Estados Unidos No. 11/975652 presentada el 18 de octubre de 2007, la Solicitud de Patente de Estados Unidos No. 11/975657 presentada el 18 de octubre de 2007 y la Solicitud de Patente de Estados Unidos No. 12/605791 presentada el 26 de octubre de 2009. En una realización específica, los inhibidores de la quinasa TOR no incluyen rapamicina o análogos de rapamicina (rapálogos).

5.2 Procedimientos de uso

Sin pretender imponer ninguna teoría, se cree que debido a que 4EBP1 (4E-proteína aglutinante 1, también denominada en la presente "p4EBP1") es un sustrato directo de la quinasa TOR (es decir, la quinasa TOR cataliza la fosforilación de 4EBP1 a p4EBP1), la inhibición de la actividad de la quinasa TOR *in vivo* se puede medir mediante la determinación de los niveles de p4EBP1 de un individuo (por ejemplo, los niveles en una muestra biológica de un individuo) antes y después del tratamiento con un inhibidor de la quinasa TOR. El inhibidor de la quinasa TOR es [7-(6-(2-hidroxipropano-2-il)piridina-3-il)-1-(trans-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona].

En consecuencia, la presente solicitud proporciona procedimientos *in vitro* para detectar o medir la inhibición de la actividad de la quinasa TOR en un individuo, que comprende medir la cantidad de p4EBP1 en una muestra biológica de dicho individuo antes y después de la administración del inhibidor de la quinasa TOR. En una realización, la cantidad de p4EBP1 se mide mediante citometría de flujo.

En una realización, la cantidad de p4EBP1 se mide en la sangre entera de un individuo. En otra realización, la cantidad de p4EBP1 se mide en las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de un individuo. En otra realización, la cantidad de p4EBP1 se mide en una muestra de tejido de un individuo. En otra realización, la cantidad de p4EBP1 se mide en una muestra de tumor de un individuo.

Se proporcionan además en el presente documento los procedimientos *in vitro* para determinar una relación dosis-respuesta para la administración del inhibidor de la quinasa TOR a un individuo, donde a este individuo se le administran dosis variables del inhibidor de la quinasa TOR y se determina la cantidad de inhibición de la actividad de la quinasa TOR en ese individuo a partir de cada dosis de dicho inhibidor de la quinasa TOR mediante el procedimiento que se describe en la presente.

Se proporcionan además en el presente documento procedimientos *in vitro* para determinar si un individuo es sensible a un inhibidor de la quinasa TOR, que comprende administrar a dicho individuo el inhibidor de la quinasa TOR y la determinar la actividad de la quinasa TOR se inhibe en este individuo mediante un procedimiento que se describe en la presente.

5

10

15

20

25

30

5.3 Descripción de inhibidores de la quinasa TOR

Los inhibidores de la quinasa TOR incluyen compuestos que tienen la siguiente fórmula (I):



y sales, clatratos, solvatos, estereoisómeros, tautómeros y profármacos farmacéuticamente aceptables de estos, donde:

R¹ es alquilo C₁₋₈, sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido o heterocicilalquilo sustituido o no sustituido;

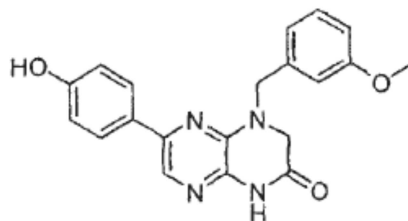
40

45

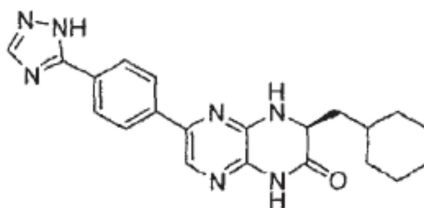
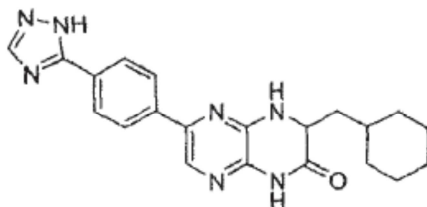
sustituido;

o R^2 y uno de R^3 y R^4 , junto con los átomos a los que están unidos, forman un heterociclilo sustituido o no sustituido.

El inhibidor de la quinasa TOR no es un compuesto que se muestra a continuación, a saber:



- 5 6-(4-hidroxifenilo)-4-(3-metoxibencilo)-3,4-dihidropirazina [2,3-b] pirazina-2 (1H)-ona;

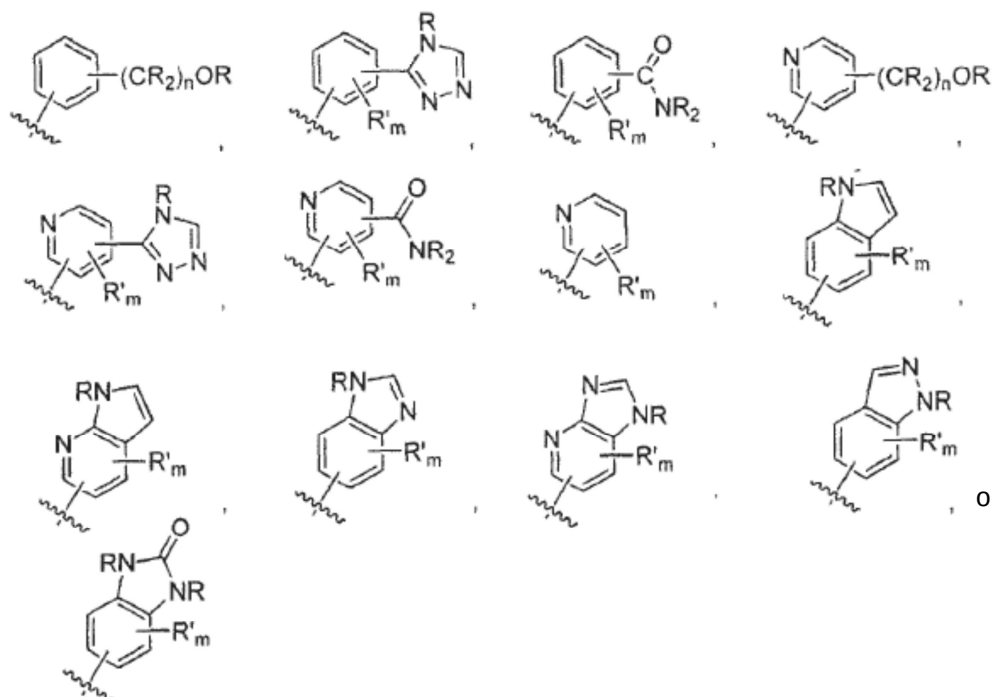


6-(4-(1H-1,2,4-triazol-5-ilo)fenil)-3-(ciclohexilmetil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;

(R)-6-(4-(1H-1,2,4-triazol-5-ilo)fenil)-3-(ciclohexilmetil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(H)-ona.

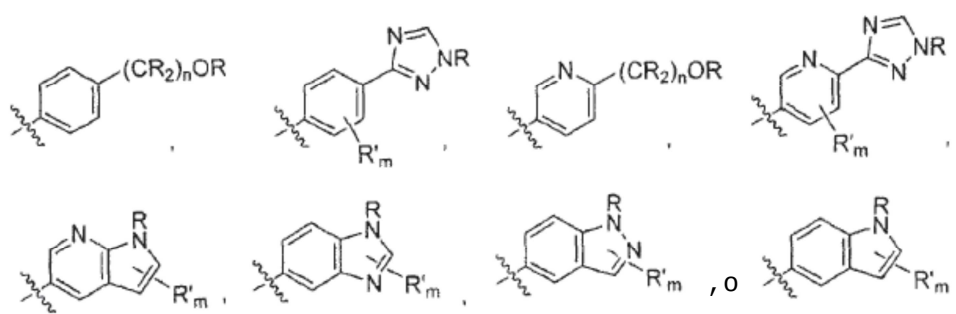
- 10 Para los compuestos de fórmula (II), R^1 es arilo sustituido o no sustituido o heteroarilo sustituido o no sustituido. Como se describe en el presente documento, R^1 es fenilo, piridilo, pirimidilo, bencimidazolilo, indolilo, indazolilo, 1H-pirrolo [2,3-b] piridilo, 1H-imidazo [4,5-b] piridilo, 1H-imidazo [4,5 b] piridina-2(3H)-onilo, 3H-imidazo [4,5-b] piridilo o pirazolilo, cada uno opcionalmente sustituido. Como se describe en el presente documento, R^1 es fenilo sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en alquilo C_{1-8} sustituido o no sustituido (por ejemplo, metilo), heterociclilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, triazolilo o pirazolilo sustituido o no sustituido), halógeno (por ejemplo, flúor), aminocarbonilo, ciano, hidroxialquilo (por ejemplo, hidroxipropilo) e hidroxilo. Como se describe en el presente documento, R^1 es piridilo sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en alquilo C_{1-8} sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, triazolilo sustituido o no sustituido), halógeno, aminocarbonilo, ciano, hidroxialquilo, -OR, -NR₂, donde cada R es independientemente H o un alquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido. Como se describe en el presente documento, R^1 es 1H-pirrolo [2,3-b] piridilo o bencimidazolilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en alquilo C_{1-8} sustituido o no sustituido y -NR₂, donde cada R es independientemente H o un alquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido. Como se describe en el presente documento,

Como se describe en el presente documento, R^1 es



donde R es en cada caso independientemente H, o un alquilo (por ejemplo, metilo) sustituido o no sustituido; R' es en cada caso independientemente un alquilo C₁₋₄ sustituido o no sustituido, halógeno (por ejemplo, flúor), ciano, -OR o -NR₂; m es 0-3, y; n es 0-3. Los entendidos en la técnica entenderán que cualquiera de los sustituyentes R¹ pueden unirse a cualquier átomo adecuado de cualquiera de los anillos en los sistemas de anillos condensados. Los entendidos en la técnica también entenderán que el enlace conector de R¹ (que se representa con la línea ondulada que divide en dos) puede unirse a cualquier átomo en cualquiera de los anillos en los sistemas de anillos condensados.

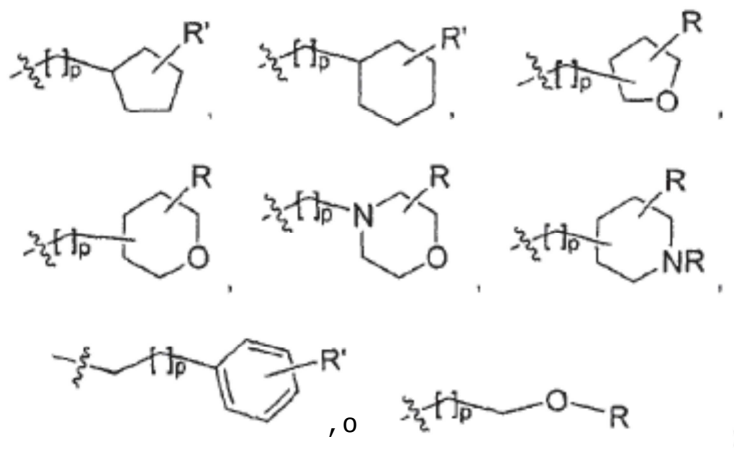
Como se describe en el presente documento, R^1 es



donde R es en cada caso independientemente H, o un alquilo C₁₋₄ sustituido o no sustituido; R' es en cada caso independientemente un alquilo C₁₋₄ sustituido o no sustituido, halógeno, ciano, -OR o -NR₂; m es 0-3, y; n es 0-3.

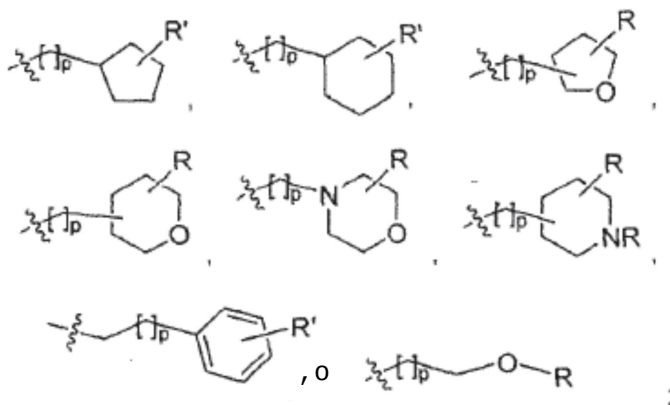
Como se describe en la presente solicitud, R² es H, alquilo C₁₋₈ sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, heterocicilo sustituido o no sustituido, alquilo-heterocicilo C₁₋₄ sustituido o no sustituido, alquilo-arilo C₁₋₄ sustituido o no sustituido o alquilo-cicloalquilo C₁₋₄ sustituido o no sustituido. Por ejemplo, R² es H, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, n-pentilo, isopentilo, ciclopentilo, ciclohexilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropirranilo, (alquil C₁₋₄)-fenilo, (alquil C₁₋₄)-ciclopropilo, (alquil C₁₋₄)-ciclobutilo, (alquil C₁₋₄)-ciclopentilo, (alquil C₁₋₄)-ciclohexilo, (alquil C₁₋₄)-pirrolidilo, (alquil C₁₋₄)-piperidilo, (alquil C₁₋₄)-piperazinilo, (alquil C₁₋₄)-morfolinilo, (alquil C₁₋₄)-tetrahidrofuranilo o (alquil C₁₋₄)-tetrahidropirranilo, cada uno opcionalmente sustituido.

Como se describe en el presente documento, R^2 es H, alquilo C_{1-4} , (alquilo C_{1-4}) (OR),



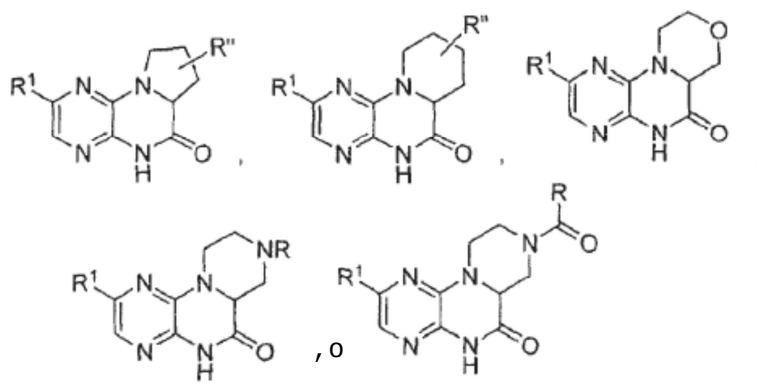
donde R es en cada caso independientemente H, o un alquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido (por ejemplo, metilo); R' es en cada caso independientemente H, -OR, ciano o un alquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido (por ejemplo, metilo) y; p es 0-3.

Como se describe en el presente documento, R^2 es H, alquilo C_{1-4} , (alquilo C_{1-4}) (OR),



donde R es en cada caso independientemente H, o un alquilo C_{1-2} sustituido o no sustituido; R' es en cada caso independientemente, H, -OR, ciano, o un alquilo sustituido o no sustituido C_{1-2} ; y p es 0-1.

Como se describe en el presente documento, R^2 y uno de R^3 y R^4 , junto con los átomos a los que están unidos, forman un heterociclilo sustituido o no sustituido. Por ejemplo, el compuesto de la fórmula (I) es



donde R es en cada caso independientemente H, o un alquilo C₁₋₄ sustituido o no sustituido; R'' es H, -OR o un alquilo sustituido o no sustituido C₁₋₄; y R¹ es como se define en la presente.

Como se define en la presente, R³ y R⁴ son ambos H. En otros, R³ o R⁴ es H y el otro es distinto de H. Además, R³ o R⁴ es alquilo C₁₋₄ (por ejemplo, metilo) y el otro es H. Además, tanto R³ como R⁴ son alquilo C₁₋₄ (por ejemplo, metilo).

Como se describe en el presente documento, R¹ es arilo sustituido o no sustituido o heteroarilo sustituido o no sustituido. Por ejemplo, R¹ es fenilo, piridilo, pirimidilo, bencimidazolilo, indolilo, indazolilo, 1H-pirrólo [2,3-b] piridilo, 1H-imidazo [4,5-b] piridilo, 1H-imidazo [4,5-b] piridina-2 (3H)-onilo, 3H-imidazo [4,5-b] piridilo o pirazolilo, cada uno opcionalmente sustituido. Como se describe en el presente documento, R¹ es fenilo sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en alquilo C₁₋₈ sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, halógeno, aminocarbonilo, ciano, hidroxialquilo e hidroxilo. R¹ es piridilo sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en ciano, alquilo C₁₋₈ sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, hidroxialquilo, halógeno, aminocarbonilo, -OR, -NR₂, donde cada R es independientemente H o un alquilo C₁₋₄ sustituido o no sustituido. Asimismo, R¹ es 1H-pirrólo [2,3-b] piridilo o bencimidazolilo, opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en alquilo C₁₋₈ sustituido o no sustituido y -NR₂, donde R es independientemente H o un alquilo C₁₋₄ sustituido o no sustituido.

Como se describe en el presente documento, los compuestos de fórmula (I) tienen un grupo R¹ y un grupo R² como se establecen en el presente documento.

Los compuesto de fórmula (I) pueden ser

6-(1H-pirrólo[2,3-b]piridina-3-il)-4-(2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropiradina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;

6-(4-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-4-((tetrahydro-2H-piran-4-il)metil)-3,4-dihidropirazmo[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;

6-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-4-((trans-4-metoxiciclohexilo)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;

6-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-4-((cis-4-metoxiciclohexilo)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;

6-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-4-((trans-4-metoxiciclohexilo)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;

6-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-4-((trans-4-hidroxiciclohexilo)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;

6-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-4-((cis-4-metoxiciclohexilo)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;

6-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-4-((trans-4-hidroxiciclohexilo)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;

6-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-4-(cis-4-hidroxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;

6-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-4-((cis-4-hidroxiciclohexilo)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;

6-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-4-(trans-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;

- ona;
- 6-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-4-(*trans*-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-4-(*trans*-4-hidroxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 5 6-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-4-((*cis*-4-hidroxiciclohexilo)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-4-(*cis*-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-4-(2-metoxietil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-4-isopropilo-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 10 6-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-4-(*cis*-4-hidroxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-4-(*cis*-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-4-(2-metoxietil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-4-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 15 6-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-4-etilo-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-4-(*trans*-4-hidroxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-4-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 20 6-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-4-isopropilo-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 4-etilo-6-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(3-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-4-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 25 6-(3-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-4-(*cis*-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(3-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-4-(*trans*-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 4-(2-metoxietil)-6-(4-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(3-(1H-1,2,4-triazol-5-ilo)fenil)-4-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 30 5-(8-(2-metoxietil)-6-oxo-5,6,7,8-tetrahidropirazina[2,3-b]pirazina-2-il)-4-metilopicolinamida;
- 3-(6-oxo-8-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidropirazina[2,3-b]pirazina-2-ilo)benzamida;
- 3-(6-oxo-8-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidropirazina[2,3-b]pirazina-2-ilo)benzonitrilo;
- 5-(8-(*trans*-4-metoxiciclohexil)-6-oxo-5,6,7,8-tetrahidropirazina[2,3-b]pirazina-2-il)-4-metilopicolinamida;
- 6-(1H-imidazo[4,5-b]piridina-6-il)-4-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 35 6-(1H-indazole-6-il)-4-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 4-((1R,3S)-3-metoxiciclopentil)-6-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 4-((1S,3R)-3-metoxiciclopentil)-6-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 40 4-((1R,3R)-3-metoxiciclopentil)-6-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;

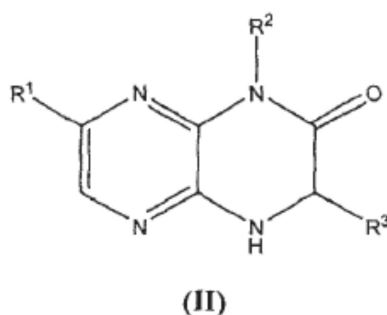
- 4-((11S,3S)-3-metoxiciclopentil)-6-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 4-etilo-6-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(1H-pirrol[2,3-b]piridina-5-il)-4-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 5 6-(1H-indol-6-il)-4-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(1H-indol-5-il)-4-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 4-(((1R,3S)-3-metoxiciclopentilo)metil)-6-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 10 4-(((1S,3R)-3-metoxiciclopentilo)metil)-6-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(3-fluoro-2-metil-4-(4H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-4-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(3-fluoro-2-metil-4-(4H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-4-(2-metoxietil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 15 3,3-dimetil-6-(4-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-4-((tetrahidro-2H-piran-4-il)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-((1R,3S)-3-metoxiciclopentil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-((1S,3R)-3-metoxiciclopentil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-(((1S,3S)-3-metoxiciclopentilo)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 20 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-(((1R,3R)-3-metoxiciclopentilo)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-((1S,3S)-3-metoxiciclopentil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-((1R,3R)-3-metoxiciclopentil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 25 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-(((1R,3S)-3-metoxiciclopentilo)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-(((1S,3R)-3-metoxiciclopentilo)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(3-fluoro-4-(4H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-4-(2-metoxietil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 30 6-(3-fluoro-4-(4H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-4-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7'-(2-metilo(-4-(4H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-1'-((tetrahidro-2H-piran-4-il)metil)-1'H-espiro[ciclopentano-1,2'-pirazinol[2,3-b]pirazina]-3'(4'H)-ona;
- 7'-(2-metil-4-(4H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-1'-((tetrahidro-2H-piran-4-il)metil)-1'H-espiro[ciclobutano-1,2'-pirazina[2,3-b]pirazina]-3'(4'H)-ona;
- 35 4-(ciclopropilmetil)-6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7'-(2-metil-4-(4H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-1'H-espiro[ciclopentano-1,2'-pirazina[2,3-b]pirazina]-3'(4'H)-ona;
- 7'-(2-metil-4-(4H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-1'H-espiro[ciclobutano-1,2'-pirazina[2,3-b]pirazina]-3'(4'H)-ona;
- 7'-(2-metil-4-(4H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-1'H-espiro[ciclopropano-1,2'-pirazina[2,3-b]pirazina]-3'(4'H)-ona;
- (R)-6-(4-(4H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-4-((tetrahidrofurano-2-il)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 40 (S)-6-(4-(4H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-4-((tetrahidrofurano-2-il)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(1H-indazole-5-il)-4-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 4-(6-oxo-8-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidropirazina[2,3-b]pirazina-2-ilo)benzamida;

- 4-(2-metoxietil)-3,3-dimetil-6-(2-metil-4-(4H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(H)-ona;
 4-etilo-3,3-dimetil-6-(2-metil-4-(4H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 6-(2-metil-4-(4H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 3,3-dimetil-6-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-4-((tetrahidro-2H-piran-4-il)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pi
 5 razina-2(1H)-ona;
 (R)-6-(6-(1-hidroxietyl)piridina-3-il)-4-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 3,3-dimetil-6-(2-metil-4-(4H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-4-((tetrahidro-2H-piran-4-il)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina
 -2(1H)-ona;
 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)-4-metilopiridina-3-il)-4-(*trans*-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-
 10 ona;
 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)-4-metilopiridina-3-il)-4-((tetrahidro-2H-piran-4-il)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(
 1H)-ona;
 3,3-dimetil-6-(2-metil-4-(4H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 3,3-dimetil-6-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-4-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pi
 15 razina-2(1H)-ona;
 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)-2-metilopiridina-3-il)-4-((tetrahidro-2H-piran-4-il)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(
 1H)-ona;
 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)-2-metilopiridina-3-il)-4-(*trans*-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-
 ona;
 (S)-6-(6-(1-hidroxietyl)piridina-3-il)-4-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 3,3-dimetil-6-(2-metil-4-(4H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-4-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazi
 na-2(1H)-ona;
 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-3,3-dimetil-4-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina
 -2(1H)-ona;
 6-(4-(2-hidroxiopropano-2-ilo)fenil)-4-(*trans*-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 6-(4-(2-hidroxiopropano-2-ilo)fenil)-4-((*trans*-4-metoxiciclohexil)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 4-(*cis*-4-metoxiciclohexil)-6-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 4-(*trans*-4-metoxiciclohexil)-6-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona
 ;
 6-(4-(2-hidroxiopropano-2-ilo)fenil)-4-((tetrahidro-2H-piran-4-il)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 4-(2-metoxietil)-6-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 9-(6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)-3-piridil)-6,11,4a-trihidromorfolino[4,3-e]pirazina[2,3-b]pirazina-5-ona;
 6-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-4-((tetrahidro-2H-piran-4-il)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)
)-ona;
 5-(8-(*cis*-4-metoxiciclohexil)-6-oxo-5,6,7,8-tetrahidropirazina[2,3-b]pirazina-2-il)-6-metilopicolinanitrilo;
 6-(6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-4-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 9-(4-(4H-1,2,4-triazol-3-il)-2-metilfenil)-3-(2-metoxiacetil)-6,11,4a-trihidropiperazina[1,2-e]pirazina[2,3-b]pirazina-5-on
 a;
 9-(4-(4H-1,2,4-triazol-3-il)-2-metilfenil)-6,11,4a-trihidropiperazina[1,2-e]pirazina[2,3-b]pirazina-5-ona;
 9-(4-(4H-1,2,4-triazol-3-il)-2-metilfenil)-3-(2-metoxietil)-6,11,4a-trihidropiperazina[1,2-e]pirazina[2,3-b]pirazina-5-ona;
 4-(ciclopentilmetil)-6-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 9-(6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)-2-metil-3-piridil)-6,11,4a-trihidromorfolino[4,3-e]pirazina[2,3-b]pirazina-5-ona;

- 4-(*trans*-4-hidroxiciclohexil)-6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 4-(*cis*-4-hidroxiciclohexil)-6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-((tetrahidrofurano-3-il)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 4-(ciclopentilmetil)-6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona:
- 5 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-neopentilo-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-isobutilo-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 3-metil-6-(2-metil-4-(4H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-4-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-(piperidina-4-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona:
- 10 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-(2-(tetrahidro-2H-piran-3-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 8-(4-(4H-1,2,4-triazol-3-il)-2-metilfenilo)(3a*S*,2*R*)-2-metoxi-5,10,3a-trihidropirazina[2,3-b]pirrolidina[1,2-e]pirazina-4-on a;
 8-(4-(4H-1,2,4-triazol-3-il)-2-metilfenilo)(2*R*,3a*R*)-2-metoxi-5,10,3a-trihidropirazina[2,3-b]pirrolidina[1,2-e]pirazina-4-on a;
- 15 8-(4-(4H-1,2,4-triazol-3-il)-2-metilfenilo)(2*S*,3a*R*)-2-metoxi-5,10,3a-trihidropirazina[2,3-b]pirrolidina[1,2-e]pirazina-4-on a;
 8-(4-(4H-1,2,4-triazol-3-il)-2-metilfenilo)(2*S*,3a*S*)-2-metoxi-5,10,3a-trihidropirazina[2,3-b]pirrolidina[1,2-e]pirazina-4-on a;
- 20 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-(3-metoxipropil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 (S)-6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-((tetrahidrofurano-2-il)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona ;
 (R)-6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-((tetrahidrofurano-2-il)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-on a;
- 25 6-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-4-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 9-(4-(4H-1,2,4-triazol-3-il)-2-metilfenil)-3-metil-6,11,4a-trihidropiperazina[1,2-e]pirazina[2,3-b]pirazina-5-ona;
 9-(4-(4H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-6,11,4a-trihidromorfolino[4,3-e]pirazina[2,3-b]pirazina-5-ona;
 9-(4-(4H-1,2,4-triazol-3-il)-2-metilfenil)-6,11,4a-trihidropiperidina[1,2-e]pirazina[2,3-b]pirazina-5-ona;
- 30 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-(*trans*-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-(*cis*-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona:
 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-(2-morfolinoetil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-fenetilo-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 4-(ciclohexilmetil)-6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 35 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-((*trans*-4-metoxiciclohexilo)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-o na;
 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-((*cis*-4-metoxiciclohexilo)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 (R)-6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-(tetrahidrofurano-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 (S)-6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-(tetrahidrofurano-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 40 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-fenilo-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
 (S)-6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-3-metil-4-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina

- 2(1H)-ona;
- 9-[6-(1-hidroxi-isopropil)-3-piridilo]-6,11,4a-trihidromorfolino[4,3-e]pirazina[2,3-b]pirazina-5-ona;
- 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-((tetrahydro-2H-piran-4-il)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-(2-metoxietil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 5 6-(2-amino-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)-4-(3-(trifluorometilo)bencil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-(3-(trifluorometilo)bencil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 9-(4-(4H-1,2,4-triazol-3-il)-2-metilfenil)-6,11,4a-trihidromorfolino[4,3-e]pirazina[2,3-b]pirazina-5-ona;
- 6-(4-metil-2-(metilamino)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-4-(2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 10 8-(4-(4H-1,2,4-triazol-3-il)-2-metilfenil)-5,10,3a-trihidropirazina[2,3-b]pirrolidina[1,2-e]pirazina-4-ona,
- 6-(4-(4H-1,2,4-triazol-3-il)fenil)-4-etilo-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(4-(4H-1,2,4-triazol-3-il)fenil)-4-((tetrahydro-2H-piran-4-il)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-4-(2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(4-(4H-1,2,4-triazol-3-il)fenil)-4-(2-metoxietil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 15 6-(4-(4H-1,2,4-triazol-3-il)fenil)-4-(3-(trifluorometilo)bencil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(2-metil-4-(4H-1,2,4-triazol-3-il)fenil)-4-(2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(4-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-4-(2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 6-(4-(2-hidroxiopropano-2-il)fenil)-4-(2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 20 6-(4-(1H-1,2,4-triazol-5-il)fenil)-4-(2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona; o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

Además de la quinasa TOR descrita en la presente, se incluyen compuestos que tienen la siguiente fórmula (II):



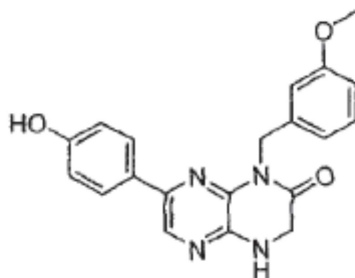
- 25 y sales, clatratos, solvatos, estereoisómeros, tautómeros y profármacos farmacéuticamente aceptables de estos, donde:

R^1 es alquilo C_{1-8} , sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido o heterociclilalquilo sustituido o no sustituido;

- 30 R^2 es H, alquilo C_{1-8} sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, heterociclilalquilo sustituido o no sustituido, aralquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilalquilo sustituido o no sustituido; y

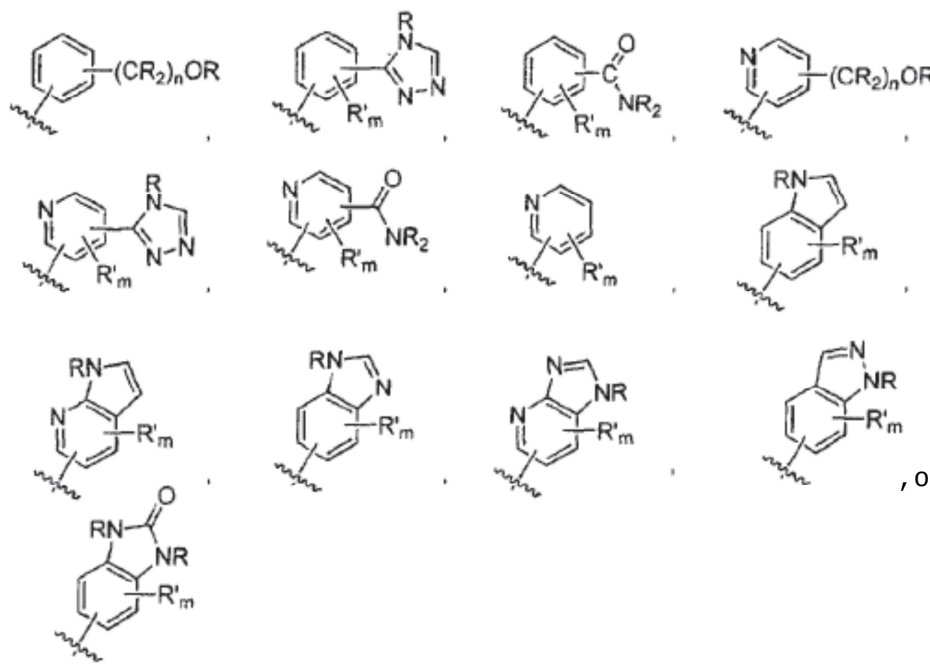
R^3 es H, alquilo C_{1-8} sustituido o no sustituido.

Como se describe en la presente solicitud, el inhibidor de la quinasa TOR no es 7- (4-hidroxifenilo) -1- (3-metoxibencilo) -3,4-dihidropirazina [2,3-b] pirazina-2 (1H) -ona, que se muestra a continuación:



Como se describe en el presente documento para los compuestos de fórmula (II), R es arilo sustituido o no sustituido o heteroarilo sustituido o no sustituido. Por ejemplo, R¹ es fenilo, piridilo, pirimidilo, bencimidazolilo, 1H-pirrol [2,3-b] piridilo, indazolilo, indolilo, 1H-imidazo [4,5-b] piridilo, 1H-imidazo [4,5-b] piridina-2 (3H) -onilo, 3H-imidazo [4,5-b] piridilo, o pirazolilo, cada uno opcionalmente sustituido. Como se describe en el presente documento, R¹ es fenilo sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en alquilo C₁₋₈ sustituido o no sustituido (por ejemplo, metilo), heterociclilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, triazolilo o pirazolilo sustituido o no sustituido), aminocarbonilo, halógeno (por ejemplo, flúor), ciano, hidroxialquilo e hidroxilo. Como se describe en el presente documento, R¹ es piridilo sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en alquilo C₁₋₈ sustituido o no sustituido (por ejemplo, metilo), heterociclilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, triazolilo sustituido o no sustituido), halógeno, aminocarbonilo, ciano, hidroxialquilo (por ejemplo, hidroxipropilo), -OR, -NR₂, donde cada R es independientemente H o un alquilo C₁₋₄ sustituido o no sustituido. Como se describe en el presente documento, R¹ es 1H-pirrol [2,3-b] piridilo o bencimidazolilo, opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en alquilo C₁₋₈ sustituido o no sustituido y -NR₂, donde R es independientemente H o un alquilo C₁₋₄ sustituido o no sustituido.

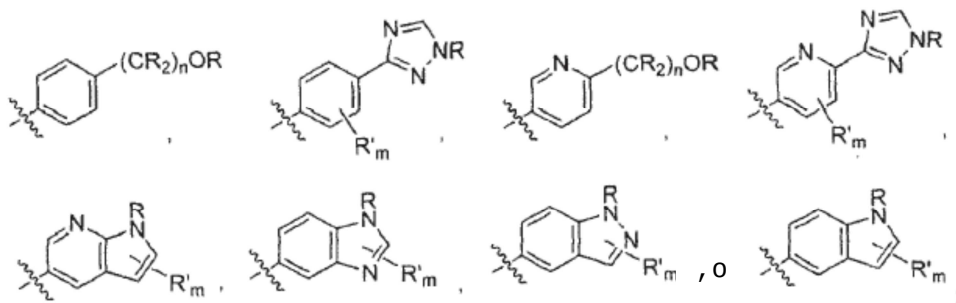
Como se describe en el presente documento, R¹ es



donde R es en cada caso independientemente H, o un alquilo C₁₋₄ sustituido o no sustituido (por ejemplo, metilo); R' es en cada caso independientemente un alquilo C₁₋₄ sustituido o no sustituido (por ejemplo, metilo), halógeno (por ejemplo, fluoro), ciano, -OR o -NR₂; m es 0-3, y; n es 0-3. Los entendidos en la técnica entenderán que cualquiera de los sustituyentes R' pueden unirse a cualquier átomo adecuado de cualquiera de los anillos en los sistemas de anillos

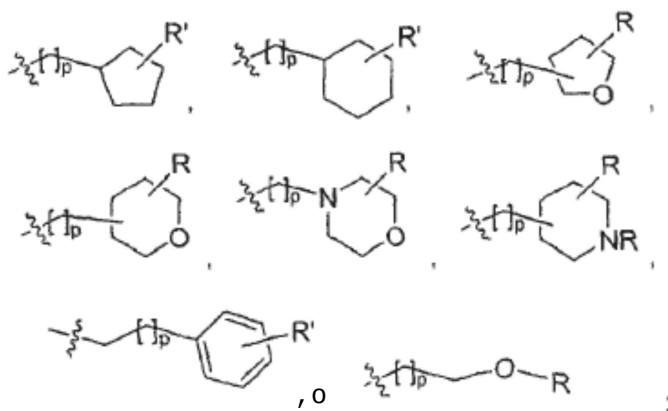
condensados.

Como se describe en el presente documento para los compuestos de fórmula (II), R^1 es



donde R es en cada caso independientemente H, o un alquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido; R' es en cada caso independientemente un alquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido, halógeno, ciano, $-OR$ o $-NR_2$; m es 0-3, y; n es 0-3.

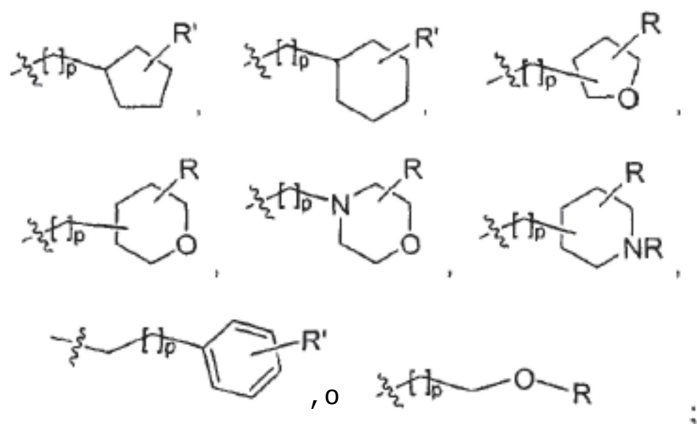
Como se describe en la presente solicitud para los compuestos de fórmula (II), R^2 es H, alquilo C_{1-8} sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, heterocicilo sustituido o no sustituido, alquilo-heterocicilo C_{1-4} sustituido o no sustituido, alquilo-arilo C_{1-4} sustituido o no sustituido o alquilo-cicloalquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido. Por ejemplo, R^2 es H, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, n-pentilo, isopentilo, ciclopentilo, ciclohexilo, tetrahidrofurano, tetrahidropirano, (alquil C_{1-4})-fenilo, (alquil C_{1-4})-ciclopropilo, (alquil C_{1-4})-ciclobutilo, (alquil C_{1-4})-ciclopentilo, (alquil C_{1-4})-ciclohexilo, (alquil C_{1-4})-pirrolidilo, (alquil C_{1-4})-piperidilo, (alquil C_{1-4})-piperazinilo, (alquil C_{1-4})-morfolinilo, (alquil C_{1-4})-tetrahidrofurano, o (alquil C_{1-4})-tetrahidropirano, cada uno opcionalmente sustituido.



Como se describe en el presente documento, R^2 es H, alquilo C_{1-4} , (alquilo C_{1-4}) (OR),

donde R es en cada caso independientemente H, o un alquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido (por ejemplo, metilo); R' es en cada caso independientemente H, $-OR$, ciano o un alquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido (por ejemplo, metilo) y; p es 0-3.

Como se describe en el presente documento para los compuestos de fórmula (II), R^2 es H, alquilo C_{1-4} , (alquilo C_{1-4} (O)),



donde R es en cada caso independientemente H, o un alquilo C_{1-2} sustituido o no sustituido; R' es en cada caso independientemente, H, -OR, ciano, o un alquilo sustituido o no sustituido C_{1-2} ; y p es 0-1.

Como se describe en el presente documento para los compuestos de fórmula (II), R^3 es H.

Como se describe en el presente documento, R^1 es arilo sustituido o no sustituido o heteroarilo sustituido o no sustituido. Por ejemplo, R^1 es fenilo, piridilo, pirimidilo, bencimidazolilo, 1H-pirroló [2,3-b] piridilo, indazolilo, indolilo, 1H-imidazo [4,5-b]piridina, piridilo, 1H-imidazo [4,5-b] piridina-2 (3H) -onilo, 3H-imidazo [4,5-b] piridilo, o pirazolilo, cada uno opcionalmente sustituido. Como se describe en el presente documento, R^1 es fenilo sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en alquilo C_{1-8} sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, aminocarbonilo, halógeno, ciano, hidroxialquilo e hidroxilo. Asimismo, R^1 es piridilo sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en alquilo C_{1-8} sustituido o no sustituido, heterociclilo, halógeno, aminocarbonilo, ciano, hidroxialquilo, -OR y - NR_2 , donde cada R es independientemente H o un alquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido. Asimismo, R^1 es 1H-pirroló [2,3-b] piridilo o bencimidazolilo, opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en alquilo C_{1-8} sustituido o no sustituido y - NR_2 , donde R es independientemente H o un alquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido.

Como se describe en el presente documento, los compuestos de fórmula (II) tienen un grupo R^1 y un grupo R^2 como se establecen en el presente documento.

Como se describe en el presente documento para los compuestos de fórmula (II), el compuesto es:

7-(5-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-1-(ciclohexilmetil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona; o,

7-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-1-(*cis*-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;

7-(1H-pirroló[2,3-b]piridina-3-il)-1-(2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropiradina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;

7-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-1-((*cis*-4-metoxiciclohexilo)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;

1-etil-7-(1H-pirroló [3,2-b] piridina-5-ilo) -3,4-dihidropirazina [2,3-b] pirazina-2 (1H) -ona; 7-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-1-((*cis*-4-metoxiciclohexilo)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;

7-(1H-benzo[d]imidazol-4-il)-1-(2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;

7-(1H-pirroló[2,3-b]piridina-4-il)-1-(2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropiradina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;

7-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-1-((*trans*-4-metoxiciclohexilo)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;

7-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-1-((*trans*-4-hidroxiciclohexilo)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;

7-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-1-(*cis*-4-hidroxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;

- 7-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-1-(*cis*-4-hidroxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-1-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-1-(2-metoxietil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 5 7-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-1-etilo-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-1-((*cis*-4-hidroxiciclohexilo)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-1-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 10 7-(1H-indol-4-il)-1-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-1-((*trans*-4-hidroxiciclohexilo)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-1-((*cis*-4-hidroxiciclohexilo)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-1-((*trans*-4-hidroxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 15 7-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-1-((*trans*-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-1-isopropilo-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-1-((*trans*-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 20 7-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-1-((*trans*-4-hidroxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-1-(2-metoxietil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-1-isopropilo-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 1-etilo-7-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(2-hidroxi-piridina-4-il)-1-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 25 1-isopropilo-7-(4-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 5-(8-isopropil-7-oxo-5,6,7,8-tetrahidropirazina [2,3-b] pirazina-2-il)-4-metilpicolinamida; 7-(1H-indazol-4-il)-1-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(2-aminopirimidina-5-il)-1-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 30 7-(2-aminopiridina-4-il)-1-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(6-(metilamino)piridin-3-il)-1-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(6-hidroxi-piridina-3-il)-1-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(4-(1H-pirazol-3-ilo)fenil)-1-(2-metoxietil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(piridin-3-il)-1-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 35 7-(1H-indazol-4-ilo)fenil)-1-(2-metoxietil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(1H-indazol-6-ilo)fenil)-1-(2-metoxietil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(piridimina-5-il)-1-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(6-metoxipiridina-3-il)-1-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 1-(2-metoxietil)-7-(1H-pirrol-2-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 40 1-etil-7-(1H-pirrol-2-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 1-etil-7-(1H-indazol-4-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;

- 7-(piridin-4-il)-1-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(6-aminopiridina-3-il)-1-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 1-metil-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 2-(2-hidroxiopropano-2-il)-5-(8-*trans*-4-metoxiciclohexil)-7-oxo-5,6,7,8-tetrahidropirazina[2,3-b]pirazina-2-il)piridina
1-óxido;
- 4-metil-5-(7-oxo-8-((tetrahidro-2H-piran-4-il)metil)-5,6,7,8-tetrahidropirazina[2,3-b]pirazina-2-il)picolinamida;
- 5-(8-((*cis*-4-metoxiciclohexilo)metil)-7-oxo-5,6,7,8-tetrahidropirazina[2,3-b]pirazina-2-il)-4-metilopicolinamida;
- 7-(1H-pirazol-4-il)-1-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 2-(*trans*-4-metoxiciclohexil)-7-(4-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona
;
- 3-((7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-2-oxo-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-1(2H)-il)metil)benzonitrilo;
- 1-((*trans*-4-metoxiciclohexilo)metil)-7-(4-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 3-(7-oxo-8-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidropirazina[2,3-b]pirazina-2-ilo)benzamida;
- 5-(8-((*trans*-4-metoxiciclohexilo)metil)-7-oxo-5,6,7,8-tetrahidropirazina[2,3-b]pirazina-2-il)-4-metilopicolinamida;
- 3-((7-6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-2-oxo-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-1(2H)-il)metil)benzonitrilo;
- 7-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-1-((1R,3R)-3-metoxiciclopentil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-1-((1S,3R)-3-metoxiciclopentil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-1-((1S,3S)-3-metoxiciclopentil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-1-((1R,3S)-3-metoxiciclopentil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(1H-indazole-6-il)-1-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-1-(2-morfolinoetil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 1-(*trans*-4-hidroxiciclohexil)-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona
;
- 1-(*cis*-4-hecrociclohexil)-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-1-(2-morfolinoetil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 1-isopropilo-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(1H-imidazo[4,5-b]piridina-6-il)-1-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 1-((*cis*-4-metoxiciclohexilo)metil)-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 1-(*trans*-4-hidroxiciclohexil)-7-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 1-(*cis*-4-hidroxiciclohexil)-7-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 4-(7-oxo-8-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidropirazina[2,3-b]pirazina-2-ilo)benzamida;
- 7-(1H-indazole-5-il)-1-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(1H-pirrol[2,3-b]piridina-5-il)-1-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropiradina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-1-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 1-((1S,3R)-3-metoxiciclopentil)-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 1-((1R,3R)-3-metoxiciclopentil)-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;

- 1-((1R,3S)-3-metoxiciclopentil)-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 1-((1S,3S)-3-metoxiciclopentil)-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 5 7-(1H-indol-5-il)-1-(2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 1-etilo-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(1H-indol-6-il)-1-(2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(4-(2-hidroxiopropano-2-ilo)fenil)-1-(*trans*-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 10 1-((*trans*-4-metoxiciclohexilo)metil)-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-1-((*cis*-4-metoxiciclohexilo)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 1-(2-metoxietil)-7-(4-metil-2-(metilamino)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(7-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-benzo[d]imidazol-5-il)-1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 15 7-(2-metil-4-(4H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 1-(2-metoxietil)-7-(4-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 1-benzilo-7-(2-metil-4-(4H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(3-fluoro-4-(4H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-1-(2-metoxietil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 20 7-(3-fluoro-4-(4H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-1-(2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(3-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-1-(2-metoxietil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 1-(*trans*-4-metoxiciclohexil)-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 25 7-(5-fluoro-2-metil-4-(4H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-1-(2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(3-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-1-(2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 1-(2-metoxietil)-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 30 7-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-1-((*trans*-4-metoxiciclohexilo)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 1-(ciclopentilmetil)-7-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(4-(2-hidroxiopropano-2-ilo)fenil)-1-(2-metoxietil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- (S)-7-(6-(1-hidroxietil)piridina-3-il)-1-(2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 35 (R)-7-(6-(1-hidroxietil)piridina-3-il)-1-(2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(4-(2-hidroxiopropano-2-ilo)fenil)-1-(2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-1-(4-(trifluorometilo)bencil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 40 7-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-1-(3-(trifluorometilo)bencil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-1-(3-metoxipropil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;

- 7-(4-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-1-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-1-(2-metoxietil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-1-((tetrahidro-2H-piran-4-il)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 5 7-(4-metil-2-(metilamino)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1-((tetrahidro-2H-piran-4-il)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(2-amino-4-(metil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1-((tetrahidro-2H-piran-4-il)metil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 10 7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-1-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- (R)-7-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-3-metil-1-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- (S)-7-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-3-metil-1-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 15 7-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-3,3-dimetil-1-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(2-amino-4-(metil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1-((tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-1-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 20 7-(2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilo)fenil)-1-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 7-(4-(1H-1,2,4-triazol-5-ilo)fenil)-1-(2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 1-(1-hidroxiopropano-2-il)-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona;
- 1-(2-hidroxi-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina-3-il)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona; o una sal farmacéuticamente aceptable de este. [De conformidad con la presente invención, el inhibidor de la quinasa TOR es 7-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-1-(trans-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona.

6. Ejemplos

6.1 Ensayo de citometría de flujo

Anticuerpos

- 30 Se utilizaron los siguientes anticuerpos: (i) Fosfo-4EBP1 (T37/46), conjugado con Alexa Fluor 647 (Cell Signaling, cat. No. 5123); (ii) CD3 (FITC) (BD Biosciences, cat. No. 555332); y (iii) CD91 (PE) (BD Biosciences, cat. No. 550497).

Reactivos

- Se utilizaron los siguientes reactivos: (i) Fosfo-4EBP1 bloqueante de péptidos (100µg a 1 mg/ml), (Cell Signaling Technology, cat. No. 1052) (conservada a -20°C); (ii) Fosfo-4EBP1 bloqueante de tampón péptido, que contiene 20 mM de fosfato de potasio (pH 7,0), 50 mM de NaCl, 0,1 mM de EDTA, 1 mg/ml de BSA y 5% de glicerol (conservado a -20°C); (iii) *BD Stain Buffer* (BSA) [Tampón de Tinción], cat. No. 554657, BD Biosciences, que contiene *Dulbeccos Phosphate Buffered Saline* (DPBS) [Tampón Fosfato Salino de Dulbecco] con un pH de 7,4, 0,2% (p/v) de albúmina de suero bovino (BSA) y azida sódica al 0,09% (NaN₃) (conservado a 4°C); (iv) *BD PhosFlow Lyse/fix buffer* [Tampón disolvente/fijador] (5x), cat. No. 558049, BD Biosciences, una solución tamponada con <40% de formaldehído y <50% de dietilenglicol (conservada a temperatura ambiente); (v) *BD PhosFlow Perm Buffer III*, cat. No. 558050, BD Biosciences, una solución tamponada que contiene metanol al 90% (conservada a temperatura ambiente); (vi) *BD Stabilizing Fixative* [Fijador Estabilizador BD] (3x), cat. No. 338036, BD Biosciences (conservado a temperatura ambiente); (vii) placa de 96 pocillos Microtest U-Bottom, cat. No. 353077, Falcon; (viii) tubos BD vacutainer (heparina), cat. No. 367874 (plástico), cat. No. 366480 (vidrio); (ix) Compuesto 1 [donde el Compuesto 1 es 7-(6-(2-hidroxiopropano-2-il)piridina-3-il)-1-(trans-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona]
- 35 ilustra un inhibidor de la quinasa TOR que se encuentra en la publicación de la solicitud de patente de los Estados Unidos No. WO 2010/062571, publicada el 3 de junio de 2010, cuyo contenido se incorpora a la presente en su totalidad a modo de referencia (véase, por ejemplo, la Sección 4.2, las páginas 15-43 y la Tabla 1); (x) sangre entera normal de un voluntario sano, obtenida del Servicio de Donantes de Sangre Normal TSRI, La Jolla, CA; y (xi) sangre entera del paciente obtenida de Conversant Biologics.
- 40
- 45
- 50

Tratamiento de sangre entera

La sangre entera se obtiene de donantes sanos/pacientes en tubos Vacutainer que contienen heparina sódica (BD, cat. No. 367874 (plástico), cat No. 366480 (vidrio)). Se mezcla la sangre cuidadosamente en el tubo para evitar la coagulación.

- 5 Las diluciones del compuesto se prepararon de la siguiente manera: El Compuesto 1 se disolvió en 100% de DMSO para obtener 30 mM o 10 mM de concentraciones madre, concentraciones madre de 30 mM o 10 mM del Compuesto 1 se diluyeron en 100% de DMSO para obtener 5 mM, 0,5 mM y 0,1 mM de concentraciones madre y diluciones 1: 100 de 5 mM, 0,5 mM y 0,1 mM de concentraciones madre se hicieron en vehículo, con concentraciones finales del Compuesto 1 en vehículos de 50 μ M, 5 μ M y 1 μ M, respectivamente. Las diluciones se conservaron a temperatura ambiente antes de su incorporación a la sangre.

Se transfirieron 1,8 ml de sangre entera a un tubo cónico de 50 ml y se trató con 200 μ L del Compuesto 1, diluido en un vehículo por 2 horas, en la oscuridad, a temperatura ambiente. La concentración final del Compuesto 1 fue de 5 μ M, 0,5 μ M y 0,1 μ M, respectivamente. La concentración final de DMSO fue de 0,1%. Cada tratamiento se realizó por triplicado.

15 Fijación y permeabilización

Mientras se esperaba que los tratamientos de sangre terminen, se diluyeron 5x de Tampón disolvente/fijador BD (cat. No. 558049) con agua destilada (o desionizada). Se precalentó 1x de tampón disolvente/fijador en un baño de agua a 37°C durante 5-10 minutos antes de su uso.

- 20 Las células se disolvieron/fijaron inmediatamente mediante la mezcla de 1 volumen de sangre con 20 volúmenes de tampón disolvente/fijador de 1x (para 2 ml de sangre + Compuesto 1 se añadieron 40 ml de tampón disolvente/fijador de 1x) y se mezclaron acabadamente mediante la reiterada inversión del tubo.

La mezcla de sangre y el tampón se incubó en un baño de agua a 37°C durante 10 minutos.

Las células se sedimentaron por centrifugación a 800x g durante 5 minutos y el sobrenadante se eliminó por aspiración.

- 25 Las células se suspendieron con 1,3 ml de PBS frío y se transfirieron a un tubo Eppendorf de 1,5 ml. Las células se sedimentaron por centrifugación a 800x g durante 5 minutos y el sobrenadante se eliminó por aspiración.

Las células se lavaron con 1 ml de PBS frío, se centrifugaron a 800x g durante 5 minutos y el sobrenadante se eliminó por aspiración. (Las células también pueden congelarse a -80°C directamente en este paso para uso posterior. Si se desea, las células de los 1,8 ml de sangre se pueden dividir en 2 tubos para 2 conjuntos de tinción de las reacciones).

- 30 Para las células congeladas a -80 ° C, los tubos congelados con células se transfieren sobre hielo y las células se suspenden con 1 ml de PBS frío. Las células se sedimentan por centrifugación a 800x g durante 5 minutos y el sobrenadante se retira por aspiración.

- 35 Las células se suspendieron y se permeabilizaron mediante la adición de 1 ml de Perm Buffer III (1- células 10×10^6) y se incubaron en hielo durante 15 minutos. (El sedimento celular debe estar bien resuspendido, sin la presencia de trozos. Es importante que las células se tratan durante no más de 30 minutos. Una permeabilización en menos o en más de las células puede afectar las señales globales de fosfoepítipo).

Las células se sedimentaron por centrifugación a 880x g durante 5 minutos y el sobrenadante se eliminó por aspiración.

- 40 Las células se lavaron con 1 ml de tampón de tinción, se centrifugaron a 880x g durante 5 minutos y el sobrenadante se eliminó por aspiración.

Adición de anticuerpos y recopilación de datos

- 45 Las células fueron teñidas por lote con anticuerpos de superficie, asegurándose de que los marcadores de superficie fueran compatibles con el sistema Perm Buffer III (si el anticuerpo no es compatible, se debe intentar la marcación de la superficie con el anticuerpo antes de tratar las células con Perm Buffer III). Becton Dickinson recomienda el uso de 20 μ l de cada anticuerpo de superficie para cada reacción de 100 μ l).

Para las células PBMC de 1,8 ml de sangre entera, se resuspendió el sedimento celular en 30 μ L de tampón de tinción (se utilizan 40 μ L de tampón de tinción si solamente se tiñen células CD91). Se agregaron 10 μ L de anti-CD3 y 10 μ L de anti-CD91 a las células, se mezclaron acabadamente y se incubaron a temperatura ambiente durante 30 minutos en la oscuridad (las células PC3 no necesitan marcado de la superficie).

- 50 Mientras se esperaba la tinción de la superficie, se separaron placas de 96 pocillos con fondo en U con fosfo-anticuerpos y el bloqueo de péptido o tampón. Se prepararon una solución de tinción p4EBP1, una solución de bloqueo de péptidos y la solución de control durante el período de espera, de la siguiente manera: solución de tinción

p4EBP1: 10 partes de tampón péptido + 2 partes de anticuerpo anti-p4EBP1: solución de bloqueo péptido: 10 partes de bloqueo de péptidos + 2 partes de anticuerpos anti-p4EBP1: y solución de control: 10 partes de tampón péptido + 2 partes de tampón de tinción.

- 5 Se añadieron 12 μ L de solución de tinción, la solución de bloqueo péptidos o la solución de control de conformidad con la siguiente configuración de la placa:

1	2	3	4	5
A DMSO-trat 1	5 μ M-trat 1	0,5 μ M-trat 1	0,1 μ M-trat 1	
B DMSO-trat 2	5 μ M-trat 2	0,5 μ M-trat 2	0,1 μ M-trat 2	PC3 DMSO Tinción p4EBP1
C DMSO-trat 3	5 μ M-trat 3	0,5 μ M-trat 3	0,1 μ M-trat 3	PC3-5 μ M
D DMSO-trat 1	DMSO-trat 2	DMSO-trat 3	PC3 DMSO	PC3-5 μ M p4EBP1-péptido
E DMSO-trat 1	DMSO-trat 2	DMSO-trat 3	PC3 DMSO	PC3-5 μ M) control

Se transfirieron 88 μ L de células diluidas a cada pocillo siguiendo el diseño de la placa antes mencionado. La placa se agitó suavemente para mezclar el tampón de tinción con células.

- 10 La placa se agitó a 25 rpm en la oscuridad a temperatura ambiente durante 30 minutos. Las células se sedimentaron en la placa por centrifugación a 880x g durante 5 minutos. El sobrenadante se retiró rápidamente mediante la inversión de la placa y la expulsión de los contenidos.

La placa se agitó para aflojar el sedimento de células en la placa de 96 pocillos. Las células se lavaron con 200 μ L de tampón de tinción por pocillo. Las células se sedimentaron en la placa por centrifugación a 880x g durante 5 minutos. Se eliminó el sobrenadante por inversión rápida de la placa y la expulsión de los contenidos.

- 15 La placa se agitó nuevamente a 25 rpm en la oscuridad a temperatura ambiente durante 30 minutos. Las células se sedimentaron en la placa por centrifugación a 880x g durante 5 minutos. El sobrenadante se retiró rápidamente mediante la inversión de la placa y la expulsión de los contenidos.

Durante la centrifugación, el Fijador Estabilizador BD Concentrado 3x se diluyó en una proporción 1: 3 con agua desionizada a temperatura ambiente.

- 20 La placa se agitó para aflojar el sedimento celular. Las células se resuspendieron en 200 μ L del Fijador Estabilizador BD 1x.

La placa se leyó en un citómetro de flujo Calibur FACS equipado con un lector de placas de 96 pocillos. Las placas que no se pueden leer de inmediato deben cubrirse con un papel de aluminio para protegerlo de la luz y almacenarse a 4°C. Las placas deben leerse dentro de 2-3 horas.

- 25 El análisis de datos se llevó a cabo mediante FlowJo (software de análisis de citometría de flujo) de Tree Star, Inc. y se evaluó la intensidad de fluorescencia promedio/media y el porcentaje de inhibición de la fosforilación de proteínas.

Los resultados se ilustran en las FIGS. 1-4.

6.2 Ensayo mTOR HTR-FRET

- 30 A continuación se incluye un ejemplo de un ensayo que se puede utilizar para determinar la actividad inhibidora de mTOR de un compuesto del ensayo. Los compuestos de ensayo se disolvieron en DMSO y se prepararon 10 mM de soluciones madre, las cuales se diluyeron apropiadamente a los fines de los experimentos. Los reactivos se prepararon como de la siguiente manera:

- 35 "Tampón TOR Simple" (usado para diluir la fracción TOR con glicerol alto): 10 mM Tris pH 7,4, 100 mM NaCl, 0,1% Tween-20, 1 mM DTT. El mTOR Invitrogen (cat. No. PR8683A) se diluye en este tampón para una concentración de ensayo de 0,200 μ g/mL.

Solución ATP/Sustrato: 0,075 mM de ATP, 12,5 mM de $MnCl_2$, 50 mM de Hepes, pH 7,4, 50 mM de β -GOP, 250 nM de Microcystin LR, 0,25 mM de EDTA, 5 mM de DTT y 3,5 μ g/mL de GST-p70S6.

- 40 Solución de detección de reactivo: 50 mM de HEPES, pH 7,4, 0,01% de Triton X-100, 0,01% de BSA, 0,1 mM de EDTA, 12,7 μ g/mL de Cy5- α GST Amersham (Cat. No. PA92002V), 9 ng/mL de α -phospho p70S6 (Thr389) (Cell Signaling Mouse Monoclonal No. 9206L), 627 ng/mL de α -mouse Lance Eu (Perkin Elmer Cat. No. AD0077).

- 5 A 20 µL del tampón de mTor simple se añaden 0,5 µL del compuesto de ensayo en DMSO. Para iniciar la reacción, se agregaron 5 µL de ATP/solución de sustrato a 20 µL de la solución de tampón TOR simple (control) y a la solución del compuesto preparado anteriormente. El ensayo se detuvo después de 60 minutos mediante la adición de 5 µL de una solución EDTA de 60 mM: A continuación se añaden 10 µL de solución de reactivo de detección y la mezcla se deja reposar durante al menos 2 horas antes de leerla en un Lector de Microplacas Perkin-Elmer Envision ajustado para detectar LANCE Eu TR-FRET (excitación a 320 nm y emisión a 495/520 nm).

6.3 Estudio clínico

La población de pacientes estaba compuesta por hombres y mujeres mayores de 18 años.

- 10 El Compuesto 1 se administra por vía oral, una vez al día, de manera ininterrumpida. Cada dosis se toma por la mañana, con el paciente en ayunas (mínimo de 6 horas).

Se administró a cada paciente una sola dosis del Compuesto 1 (Día -1), seguida de un periodo de lavado de 24 horas y un período de observación de 48 horas y recolección de muestras farmacocinéticas; después del Día 1 se administró diariamente durante 28 días.

- 15 Se administraron las siguientes dosis iniciales: Cohorte 1 = 7,5 mg; Cohorte 2 = 15 mg; Cohorte 3 = 30 mg; Cohorte 4 = 45 mg. A los cohortes iniciales de un individuo se les dio el Compuesto 1 en incrementos de dosis de 100% (es decir, se duplica el nivel de dosis cada vez) hasta que se sospechó que la primera instancia de grado 2 o mayor toxicidad se relacionaba con el Compuesto 1.

Los resultados se ilustran en las FIGS. 5 y 6.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento in vitro para detectar o medir la inhibición de la actividad de la quinasa TOR en un individuo, que comprende el uso de citometría de flujo para medir la cantidad de 4EBP1 fosforilada en muestras biológicas que se han obtenido de ese individuo antes y después de la administración de un inhibidor de la quinasa TOR, donde el inhibidor de la quinasa TOR es 7-(6-(2-hidroxiopropano-2-ilo)piridina-3-ilo)-1-(trans-4-metoxiciclohexilo)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona o una sal, un clatrato, solvato, estereoisómero, tautómero o profármaco farmacéuticamente aceptable de este, donde una disminución en la cantidad de 4EBP1 fosforilada confirma la inhibición de la actividad de la quinasa TOR en el individuo.
2. El procedimiento in vitro de la reivindicación 1, que es un procedimiento para determinar una relación dosis-respuesta para la administración de un inhibidor de la quinasa TOR a ese individuo, donde a este individuo se le administraron dosis variables del inhibidor de la quinasa TOR y se determina la cantidad de inhibición de la actividad de la quinasa TOR en ese individuo a partir de cada dosis de dicho inhibidor de la quinasa TOR mediante citometría de flujo para medir la cantidad de 4EBP1 fosforilada en muestras biológicas que han sido obtenidas de este individuo antes y después de cada administración del inhibidor de la quinasa TOR.
3. El procedimiento in vitro de la reivindicación 1, que es un procedimiento para determinar si ese individuo es sensible a un inhibidor de la quinasa TOR, donde a dicho individuo se le administró el inhibidor de la quinasa TOR y se determina si la quinasa TOR se inhibe en el individuo mediante citometría de flujo para medir la cantidad de 4EBP1 fosforilada en muestras biológicas que han sido obtenidas de este individuo antes y después de cada administración del inhibidor de la quinasa TOR.
4. El procedimiento in vitro de la reivindicación 1, que es un procedimiento para determinar la cantidad efectiva de un inhibidor de la quinasa TOR para el tratamiento de una enfermedad en un paciente, donde a este individuo se le administraron dosis variables del inhibidor de la quinasa TOR y se determina la cantidad de inhibición de la actividad de la quinasa TOR en ese paciente a partir de cada dosis de dicho inhibidor de la quinasa TOR mediante citometría de flujo para medir la cantidad de 4EBP1 fosforilada en muestras biológicas que han sido obtenidas de este paciente antes y después de cada administración del inhibidor de la quinasa TOR.
5. Un kit que comprende uno o más recipientes que tienen un anticuerpo anti-p4EBP1, donde el kit se usa para medir la cantidad de 4EBP1 en muestras biológicas mediante citometría de flujo, donde el kit comprende un inhibidor de la quinasa TOR, donde el inhibidor de la quinasa TOR es 7-(6-(2-hidroxiopropano-2-ilo)piridina-3-ilo)-1-(trans-4-metoxiciclohexilo)-3,4-dihidropirazina[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona o una sal, un clatrato, solvato, estereoisómero, tautómero o profármaco farmacéuticamente aceptable de este.

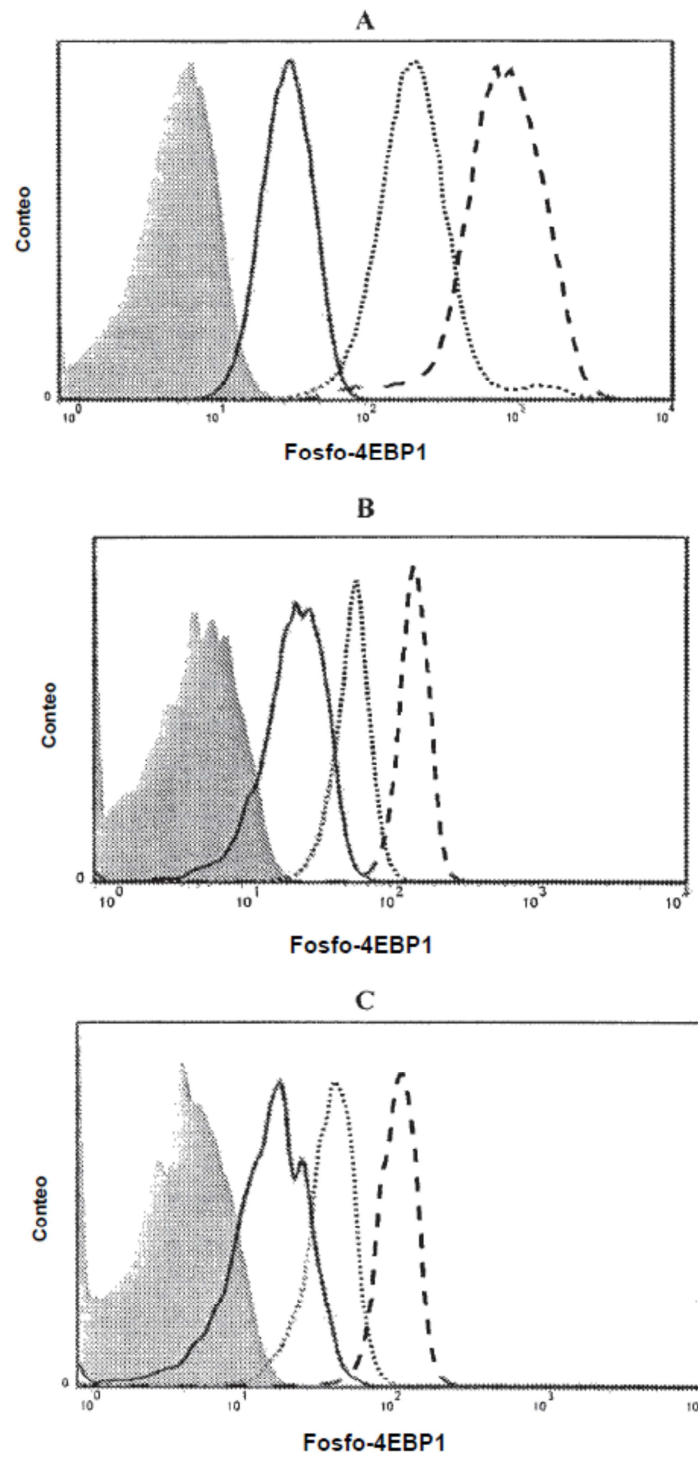


FIG. 1

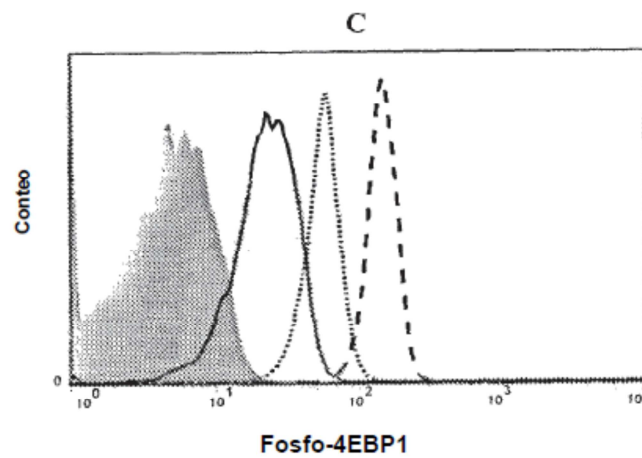
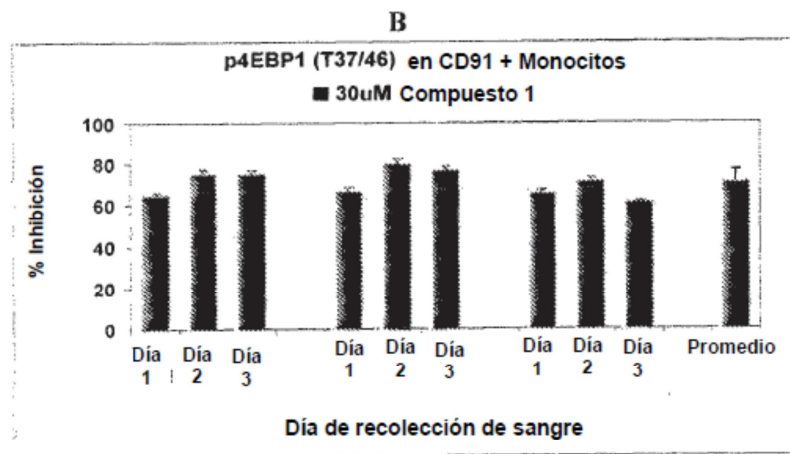
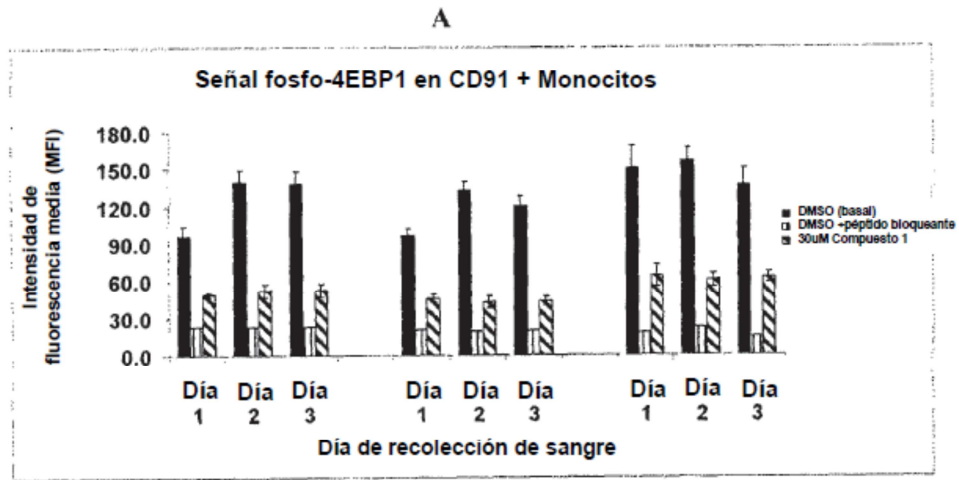


FIG. 2

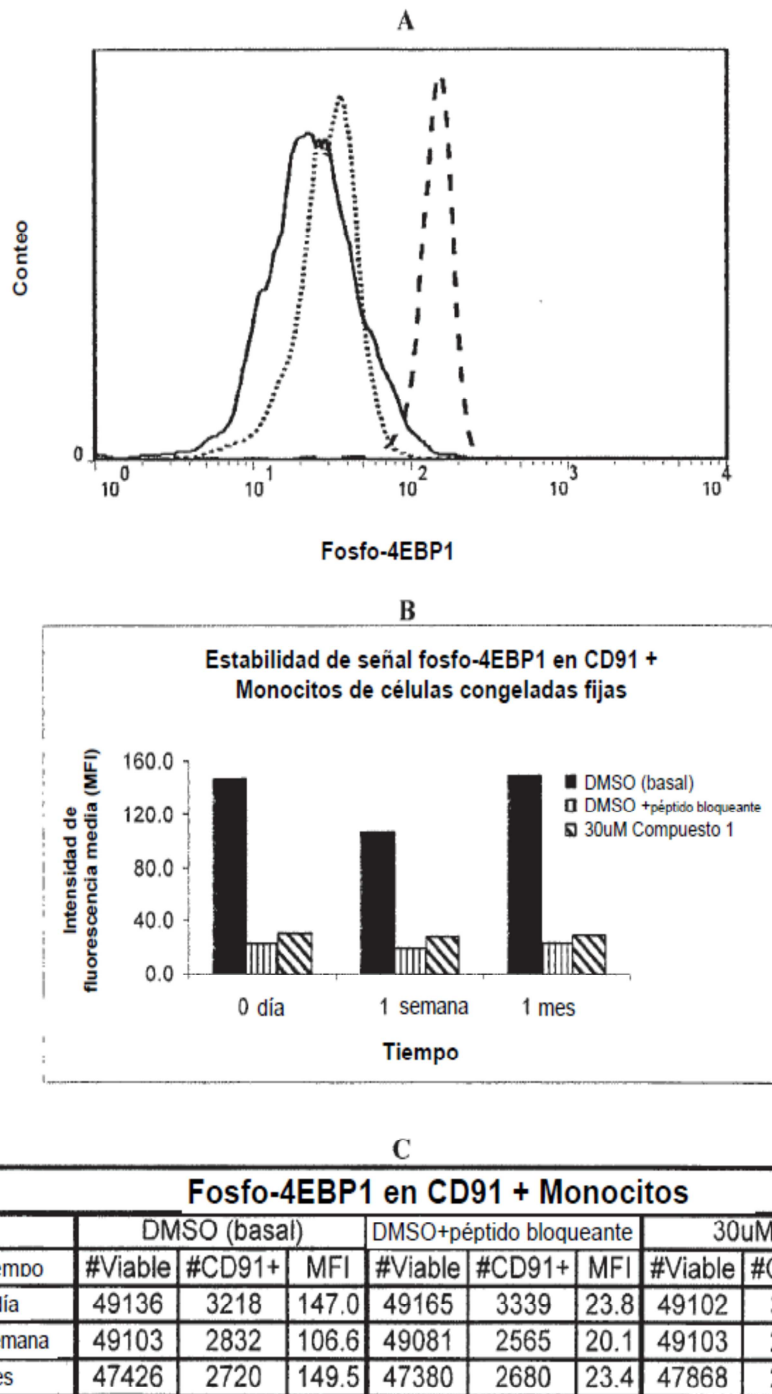
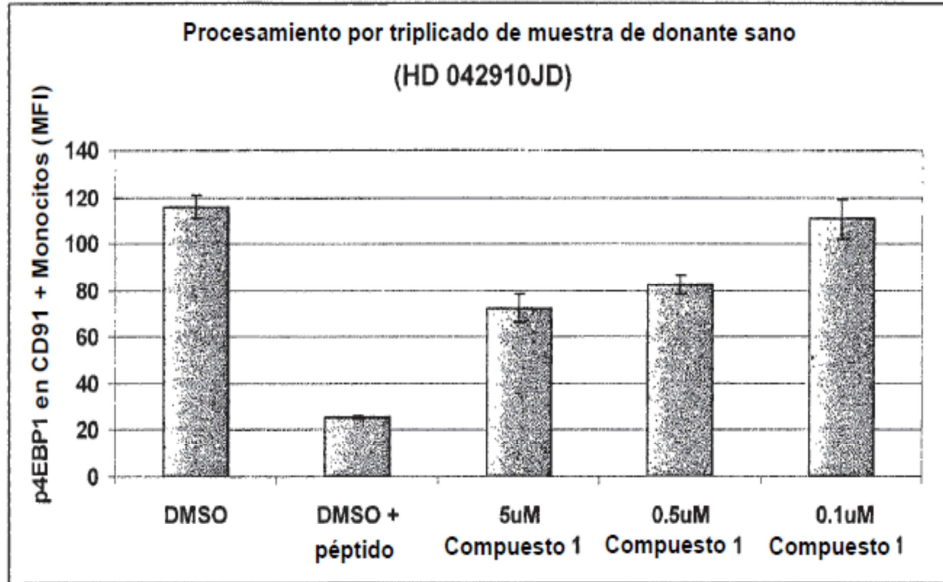


FIG. 3

A



B

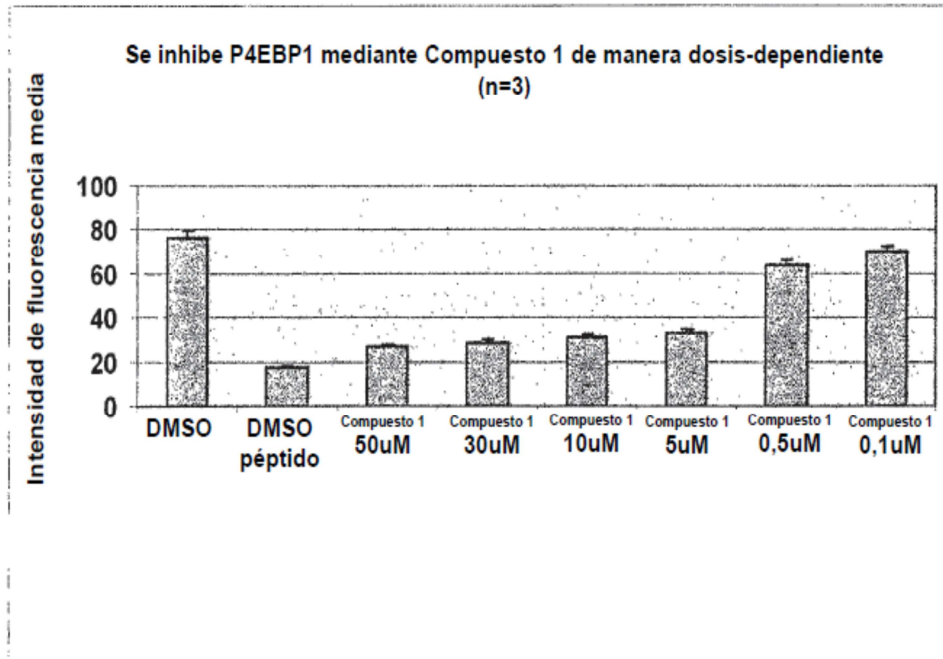


FIG. 4

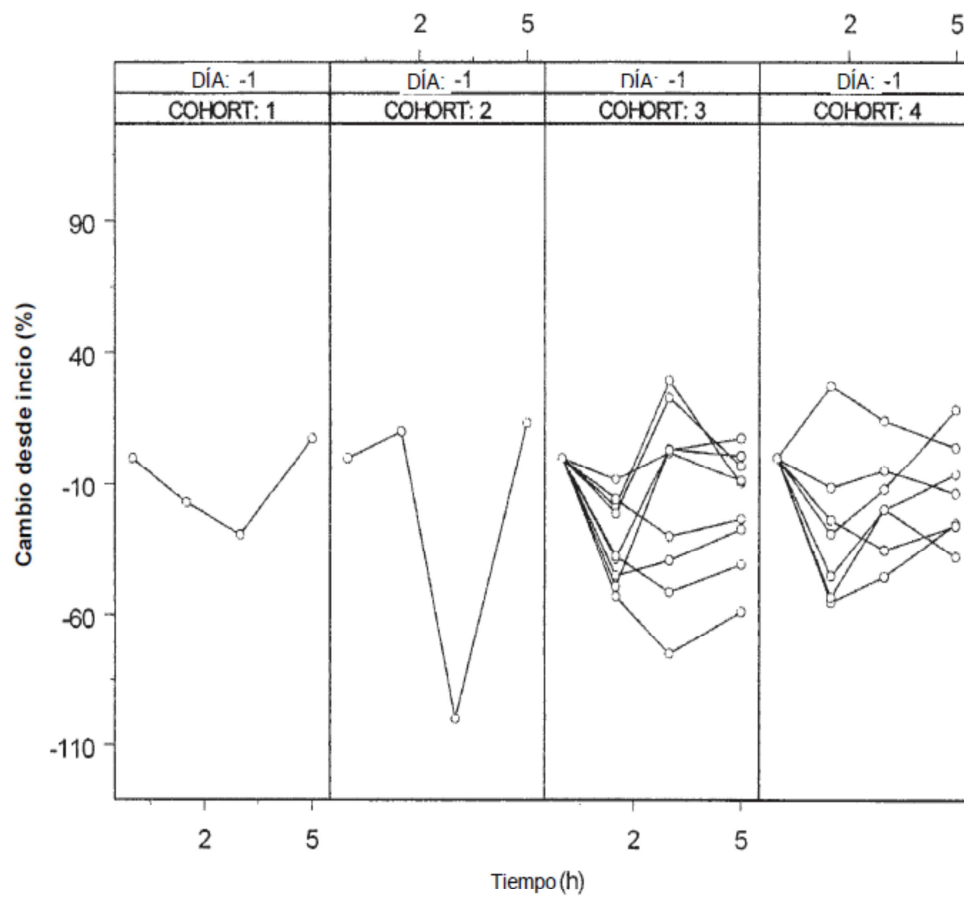


FIG. 5

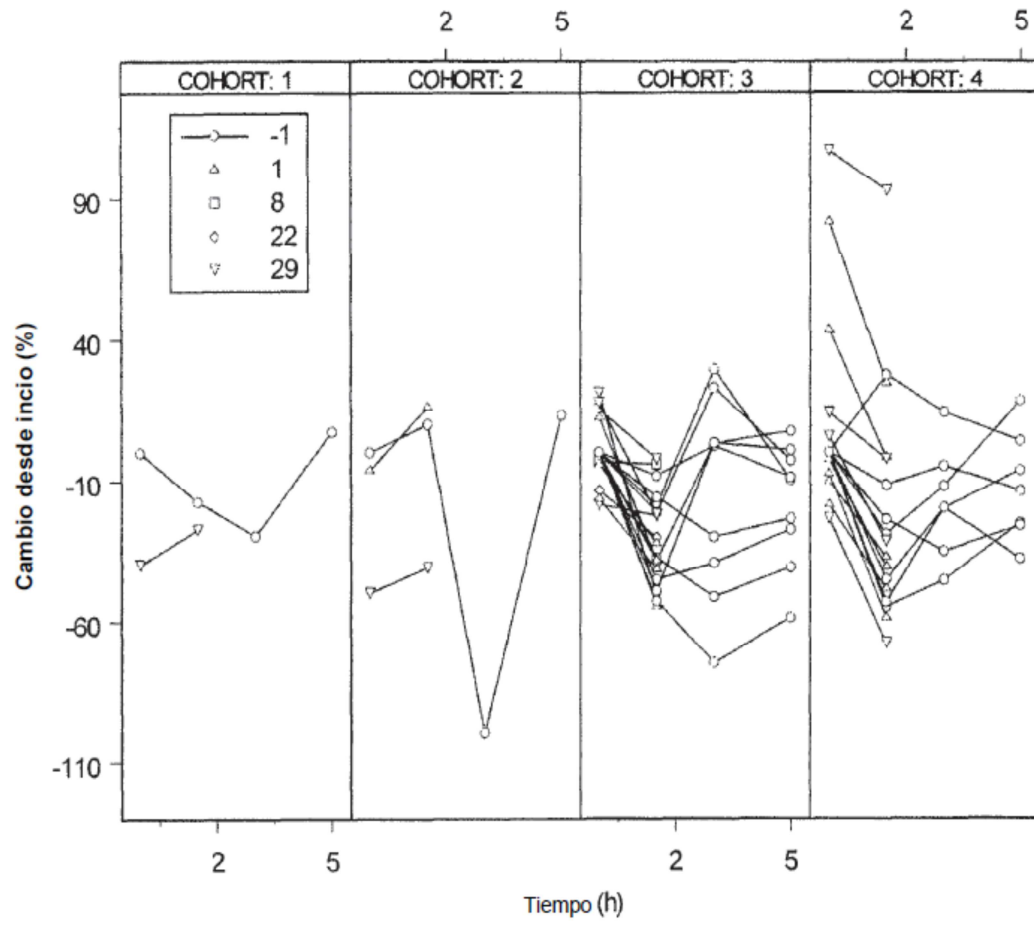


FIG. 6